creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

**저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.**

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000264289

2014년 2월
박사학위 논문

# 밀싹 추출물이 모발성장에 미치는 효과

조선대학교 대학원

화학공학과

류 은 미

# 밀싹 추출물이 모발성장에 미치는 효과

Effect of Wheat Sprout Extracts on Hair Growth

2014년 2월 25일

조선대학교 대학원

화학공학과

류 은 미

# 밀싹 추출물이 모발성장에 미치는 효과

지 도 교 수 신 현 재

이 논문을 공학 박사학위신청 논문으로 제출함

2013년 10월

조선대학교 대학원

화학공학과

류 은 미

# 류은미의 박사학위논문을 인준함

| | | | |
|---|---|---|---|
| 위원장 | 조선대학교 | 교수 | 이 중 헌 ㊞ |
| 위 원 | 조선대학교 | 교수 | 이 재 욱 ㊞ |
| 위 원 | 조선대학교 | 교수 | 조 훈 ㊞ |
| 위 원 | 광주여자대학교 | 교수 | 박 병 건 ㊞ |
| 위 원 | 조선대학교 | 교수 | 신 현 재 ㊞ |

2013년 11월

조선대학교 대학원

# 목 차

LIST OF TABLES ..... I
LIST OF FIGURES ..... II
ABSTRACT ..... V

제 1 장 서 론

1. 연구배경 ..... 1
2. 연구동향 ..... 3
3. 연구 목적 및 내용 ..... 7

제 2 장 연구이론

1. 모발 ..... 10
1.1 모발 ..... 10
1.2 모발의 생성 ..... 11
1.3 모발의 구조 및 기능 ..... 11
1.4 모발의 주기 ..... 13
2. 두피 ..... 15
2.1 두피 ..... 15
2.2 두피의 구조 ..... 16

2.3 두피 타입별 분류 ..... 17
3. 탈모 ..... 20
3.1 탈모 ..... 20
3.2 탈모의 유형 ..... 21
4. 면역 ..... 24

## 제 3 장 밀싹의 문헌적 고찰

1. 밀 ..... 28
2. 국산밀 ..... 30
3. 밀싹 ..... 36
3.1 밀싹 (wheat sprout or wheat grass) ..... 36
3.2 밀싹의 유용성분 ..... 39
3.3 밀싹의 생리활성 ..... 42

## 제 4 장 밀싹의 재배 조건 확립

1. 국산밀과 수입산밀의 성장 비교 ..... 48
1.1 실험재료 ..... 48
1.2 실험방법 ..... 48
1.3 실험 결과 및 고찰 ..... 52
2. 원두커피 부산물 첨가에 따른 밀싹의 성장과
엽록소 성분의 변화 ..... 55
2.1 실험재료 ..... 55

2.2 실험방법 ..... 55
2.3 실험 결과 및 고찰 ..... 57

제 5 장 RAW 246.7 대식세포에서의 밀싹 추출물의 항염증 효과

1. 실험재료 ..... 67
2. 실험방법 ..... 68
2.1 시료추출 ..... 68
2.2 세포배양 ..... 70
2.3 MTT assay ..... 70
2.4 NO assay ..... 70
2.5 RNA 분리 및 RT-PCR ..... 71
2.6 Western Blot ..... 71
3. 실험 결과 및 고찰 ..... 73
3.1 MTT assay와 NO(Nitric oxide) assay ..... 73
3.2 RT-PCR, Western Blot ..... 78

제 6 장 밀싹 에탄올 추출의 C57BL/6 Mouse에 대한 발모효과

1. 실험재료 ..... 80
1.1 실험시료 ..... 80
1.2 실험동물 ..... 80

2. 실험방법 ..... 81
2.1 밀싹 재배 및 추출 ..... 81
2.2 실험동물 처치 ..... 82
2.3 육안적 분석(외형 효과) ..... 82
2.4 육안적 분석(경피 내측 효과) ..... 82
2.5 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin) ..... 84
2.6 조직학적 분석(Toluidin Blue) ..... 84
3. 실험 결과 및 고찰 ..... 85
3.1 육안적 분석(외형 효과) ..... 85
3.2 육안적 분석(경피 내측 효과) ..... 89
3.3 Mouse 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin) ..... 91
3.4 조직학적 분석(Toluidin Blue) ..... 93

## 제 7 장 밀싹 추출물이 두피 면역 과민반응에 미치는 영향

1. 실험재료 ..... 96
1.1 실험시료 ..... 96
1.2 실험동물 ..... 96
2. 실험방법 ..... 97
2.1 밀싹 재배 및 추출 ..... 97
2.2 실험동물 처치 및 실험방법 ..... 97
2.3 Cytokine ..... 98

3. 실험 결과 및 고찰 ..... 100
3.1 육안적 분석(외형 효과) ..... 100
3.2 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin) ..... 102
3.3 조직학적 분석(Toluidin Blue) ..... 102
3.4 Cytokine 분석 ..... 104

제 8 장 결론 및 제언
1. 밀싹의 문헌적 고찰 ..... 110
2. 밀싹 재배조건 확립 ..... 111
3. RAW 246.7 대식세포에서의 밀싹 추출물의 항염증 효과 ..... 112
4. 밀싹 에탄올 추출의 C57BL/6 Mouse에 대한 발모효과 ..... 113
5. 밀싹 추출물이 두피 면역 과민반응에 미치는 영향 ..... 114
6. 제언 ..... 115

참고문헌

감사의 글

# LIST OF TABLES

Table 3-1. Key characteristics of wheat varieties ····· 32
Table 3-2. Application with Korean Wheat products ····· 33
Table 3-3. Chemical compositions of wheat varieties ····· 34
Table 3-4. The medical application of wheat sprout extracts ····· 45
Table 4-1. Growth results of imported/domestic wheat ····· 53
Table 4-2. Soil media composition for wheat sprout cultivation used in this study ····· 66
Table 6-1. Base formulation for the preparation of wheat sprout sample solution ····· 83
Table 6-2. Hair regrowth scores of wheat sprout fractions ····· 87

# LIST OF FIGURES

Fig. 1-1. Simplified diagram for prostaglandin production. ····· 6
Fig. 1-2. Diagram for PGE2 (prostaglandin synthases) regulation. ····· 6
Fig. 1-3. Schematic diagram of the study. ····· 9
Fig. 2-1. The structure of hair. ····· 14
Fig. 2-2. The hair growth cycle. ····· 14
Fig. 2-3. Classified by type of scalp. ····· 19
Fig. 2-4. Mechanism of immune cytokines. ····· 27
Fig. 2-5. The basic ring structure of a porphyrin ring and structure of chlorophylla. ····· 27
Fig. 3-1. Wheat sprout used in this study. ····· 38
Fig. 3-2. Application of wheat sprout. ····· 41
Fig. 3-3. Main compounds of wheat sprout. ····· 47
Fig. 4-1. Schematic diagram of plant growth chamber used in this study. ····· 49
Fig. 4-2. The process of wheat sprout growth. ····· 51
Fig. 4-3. The comparison of imported and domestic wheat. ····· 53
Fig. 4-4. The comparison of imported and domestic wheat on widths. ····· 54
Fig. 4-5. The comparison of imported and domestic wheat on thickness. 54
Fig. 4-6. The comparison of imported and domestic wheat on lengths. ····· 54
Fig. 4-7. Wheat sprout samples after growth experiment using randomized block design (RBD). ····· 57
Fig. 4-8. Length variation of fresh wheat sprout. ····· 60

Fig. 4-9. Length variation of dried wheat sprout. ····· 60
Fig. 4-10. Weight variation of fresh wheat sprout. ····· 61
Fig. 4-11. Weight variation of dried wheat sprout. ····· 61
Fig. 4-12. Total chlorophyll contents with different amounts of coffee grounds. ····· 63
Fig. 5-1. Wheat germ extract process. ····· 69
Fig. 5-2. Open column with Hexane and Ethylacetate. ····· 69
Fig. 5-3. Isolation diagram of the fraction 5 and fraction 8 from ethanolic extracts of wheat sprout. ····· 69
Fig. 5-4. MTT and NO assay of crude extract from wheat sprout. ····· 75
Fig. 5-5. MTT and NO assay of EtOAc extract from wheat sprout. ····· 75
Fig. 5-6. MTT and NO assay of n-BuOH extract from wheat sprout. ···· 76
Fig. 5-7. MTT and NO assay of Open column fraction No. 1 from wheat sprout. ····· 76
Fig. 5-8. MTT and NO assay of Open column fraction No. 5 from wheat sprout. ····· 77
Fig. 5-9. MTT and NO assay of Open column fraction No. 8 from wheat sprout. ····· 77
Fig. 5-10. Inducible nitric oxide synthase assay of wheat sprout fractions. ····· 79
Fig. 6-1. Isolation diagram of the fraction 5 and fraction 8 from ethanolic extracts of wheat sprout. ····· 81
Fig. 6-2. Time course of hair-promoting effect of (a) wheat sprout extract (fr. 5), (b) wheat sprout extract (fr. 8), (c) no treatment, (d) base formular, and (e) minoxidil 3% solution. ····· 86
Fig. 6-3. Effect of hair regrowth score. Hair regrowth was evaluated by

the gray- or black-colored area (%) on the reverse side of the skin. ····· 88
Fig. 6-4. Hair growth at the reverse side of the skin. ····· 90
Fig. 6-5. Tissue observation (with hematoxylin & eosin) by H&E optical microscope (100X). ····· 92
Fig. 6-6. Tissue observation (with toluidine blue dye) by optical microscope (100X). ····· 95
Fig. 7-1. Diagram of experimental procedure. ····· 97
Fig. 7-2. Atopic dermatitis induced with wheat germ extract, after 29 and 40 days. ····· 101
Fig. 7-3. Histological features of skin in the groups of mice studieds. ··· 103
Fig. 7-4. Histophatological analysis of skin in the groups of mice studied. ····· 103
Fig. 7-5. Effects of WS on cytokines in spleen tissue of DNCB treated mice. ····· 106
Fig. 7-6. Effects of WS on cytokines in spleen tissue of DNCB treated mice. ····· 107
Fig. 7-7. Relative density to each control(Spleen cytokines). ····· 107
Fig. 7-8. Dot blot analysis of spleen cytokines. ····· 108
Fig. 7-9. Effects of WS on cytokines in spleen tissue of DNCB treated mice. ····· 109
Fig. 7-10. Relative density to each control(Spleen cytokines). ····· 109

# ABSTRACT

## Effect of Wheat Sprout Extracts on Hair Growth

Ms. Eun-Mi Ryu
Advisor : Hyun-Jae Shin, Ph.D.
Dept. of Chemical Engineering
(Major: Cosmetic Engineering)
Graduate School of Chosun University

Wheat (wheat, *Triticum* spp.) the annual crops of around 1 m height has been grown around the world. Wheat sprout used in this study was named by the young shoots before generating the wheat growing areas in the development process. Traditionally, wheat sprout has been reported to be very effective for Mediterranean anemia called β-thalassemia. Also wheat sprout juice is also rich in antioxidants and has a good efficacy of vitamin E, catalase and peroxidase activity which are considered to reduce age-related cataract. There have been some reports on the health effects but little reports on the effect of wheat sprout on scalp and hair. In this study, a wheat sprout extract as a powerful natural antioxidant prepared from a hydrophobic layer has been used to examine the hair growth and

scalp conditioning, and to evaluate the impact of any immune signaling pathway. Some researches have been carried out and the results are as follows.

### 1. Literature review

Research trends on utilization methods and physiological activities of the ingredients of wheat and wheat sprout have been summarized as follows:

Research has been confined in wheat processing characteristics and physical and chemical characteristics in case of wheat, and several works on the nutrients study have been performed using the limited domestic wheat varieties. In addition, there has been no report on the domestic wheat (*Kumkang*) for the domestic literature and the anticancer, antioxidant activity, and anti-ulcer activities and improved blood flow have been reported for foreign wheat. Therefore, in this study, based on the literature review some works on wheat sprout for beauty industry have been performed.

### 2. Establishment of wheat sprout growing conditions

Four cultivar of domestic wheats (*Keumkang*, *Woori*, *Jogyung*, and *Baekjoong*) and four cultivar of foreign wheats (NS, USA; WH, USA; ZCW, Canada; Chinese one) have been compared in terms of the leaf width and thickness of sprout. Domestic ones are superior to those of foreign ones. For sprout growth Canada one grew well but showed musty bacteria contamination during the growth process resulting in browning of blossomed wheat sprout. Thus it could not be used in the experiment. *Keumkang* wheat cultivar has been used throughout the study considering the growth

rate and the ease of wheat supply.

Wheat sprout (*Triticum aestivum*) shows excellent nutritional and health effects due to the contents in amino acids, minerals, and other nutrients rich in chlorophyll and vitamins. So, the ground coffee was added to wheat sprout media as the by-product component to increase the economic feasibility. In this study, spent coffee grounds were used to cultivate the wheat sprout for 12-day. An amount of 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% (w/w, based on commercial sterile soil media) were used under the same conditions. Total length and weight of wheat sprout, above- and below-ground length and weight, and the chloropyll contents were compared. Soil media were analyzed before and after wheat cultivation, showing that 40% and 60% (w/w) coffee media promoted wheat growth in view of length and weight. Chlorophyll contents in each group showed almost constant values, while 100% (w/w) coffee media led to a slight decrease. In summary, spent coffee grounds stimulated wheat growth, showing nearly stable contents of chlorophyll.

### 3. Anti-inflammatory effect of wheat sprouts' hydrophobic fraction

Wheat sprout (*Triticum aestivum* L., *Keumkang*) powder was treated with 80% ethanol at room temperature for 72 hours. They were then extracted using ethyl acetate and n-butanol. Hydrophobic and hydrophilic fractions were loaded on a silica open column (one liter for each fraction) and analyzed by thin layer chromatography (TLC). The carbohydrate fractions were detected using chromogenic reagent and concentrated by evaporator. The separated fractions from wheat sprout were evaluated for the toxicity and anti-inflammation activity by MTT/NO assay, for ingredient

identification using HPLC/MS. As a result, fraction no. 2, 7, 12, 14, 17, and 23 fractions from wheat sprout showed higher anti-inflammation activity than control.

### 4. Hair growth effect of ethanolic extract of wheat sprout

In this study, effects of natural antioxidants from wheat sprout extract on hair growth of C57BL/6 mouse (female) were evaluated. Hydrophobic layers (80% ethanol, open column) of wheat sprout (fr. 5 and fr. 8) were used, with minoxidil (3%) as a positive control. With one week adaption, hair growth of 6-week old C57BL/6 mouse (female) was observed after 4 weeks of back hair removal. Trans-dermal examination and hematoxylin and eosin (H&E) staining and toluidin blue staining of skin tissue were used before observation with an optical microscope, which showed similar hair growth in the positive control minoxidil (3%) as wheat sprout (fr. 5), while slower in wheat sprout (fr. 8). The slaughtering cervical tissue at 4 weeks after the C57BL/6 mouse with wheat sprout (fr. 5) started the transition to growth. Hematoxylin & eosin stained histological analysis of wheat sprout (fr. 5) showed more follicles on the skin surface and smaller mast cells (shown with toluidin blue dye). In summary, wheat sprout extract (fr. 5) on C57BL/6 mouse in dermal application and histological analysis promotes the hair growth, predicting an application of wheat sprout extract in a wide range of hair remedy products.

### 5. Effect on immune hypersensitivity of scalp

Among 24 kinds of dermal tissue cytokine measured, C5/C5a, GM-CSF, IL-1a, IL-16, IP-10, CXCL9/MIG, MIP-2, TMP-1 have been changed after

the treatment of wheat sprout (WS) extract. Among them, GM-CSF, IL-16, IP-10, CXCL9 increased with the positive control, DNCB, the result of WS was similar to that of the control group. In spleen tissue, C5/C5a, ICAM-1, IL-1b, IL-1ra, IP-10, M-CSF, CXCL9/MIG, TNF-$\alpha$ have been changed. Some cytokine signals were decreased (C5/C5a, ICAM-1, IL-1b, IP-10, M-CSF, CXCL9/MIG, TNF-$\alpha$). And IL-1ra were very close to the normal group. It may be speculated that WS can inhibit the inflammation by a signal transduction pathway.

In conclusion, through this study, the growth conditions of domestic wheat sprout have been established and a novel media including coffee ground waste has been introduced to increase the economic feasibility. Some antioxidant and anti-inflammation activities have been verified using the hydrophobic fraction of ethanolic extracts. Several ingredients responsible for the activities were suggested and more works will be done to identify them. For some fractions, hair promoting effects were examined using a mouse model and histological and immunological results were given. Much works on the immunological cytokines should be done afterwards. Wheat sprout and its extract is very promising to cosmetic and beauty industry because the raw materials are very easy to get, the cultivation cost is very low, and several scientific findings on hair growth are available.

# 제 1 장 서 론

## 1. 연구배경

현대사회가 발전함에 따라 생활양식 및 소득수준의 향상으로 남녀노소를 막론하고 아름다움을 추구하려는 욕구 또한 높아지고 있다. 그러나 다변화 시대를 살고 있는 현대인들은 더욱더 복잡해진 사회구조 안에서 환경오염과 과도한 스트레스 식생활의 변화로 우리 몸에서는 여러 가지 불균형이 일어나고 있으며, 탈모도 그 중 하나의 현상으로 나타나고 있다[(1)]. 일반적으로 모발의 기능은 외부의 충격으로부터 인체를 보호하며 수은(Hg), 비소(As), 아연(Zn) 등의 중금속을 흡수하여 체외로 배출한다[(2)]. 이러한 모발의 반복적인 주기는 모발을 성장시키는 성장기 단계(anagen stage), 성장을 일시적으로 멈추는 퇴행기 단계(catagen stage), 오래된 모발을 탈락시키는 휴지기 단계(telogen stage)와 새로운 모발이 생성되는 발생기 단계(new anagen stage)로 나눌 수 있다[(3)]. 그러나 탈모가 진행되면 새로운 모발이 나와 정상적으로 자라지 못한 채 빠지는 경우가 많고 모발이 가늘어지고 성장기 단계(anagen stage)가 짧아지며 휴지기 단계(telogen stage)가 길어지는 현상도 발생한다[(4)]. 모발의 성장과 탈락에 관여하는 전사인자는 에스트로겐(estrogen), 성장호르몬(growth hormone), 갑상선 호르몬(thyroid hormone) 등이 알려져 있으며, 가장 많은 영향을 미치는 인자는 남성호르몬으로써 유전성 안드로겐(androgen)이다. 특히, 이행층 내 모유두(hair papilla)는 남성호르몬의 수용체가 있어 남성형 탈모에 관여함으로써 모유두(hair papilla)와 모낭(hair follicle)의 크기, 모발 굵기 간에 비례됨을 갖게 한다[(5)]. 탈모 원인은 유전에 따른 선천적 1차 요인뿐만 아니라 후천적 2차 요인이 늘어나고 있으며, 철(Fe)과 칼슘(Ca), 아연(Zn) 등의 영양상태가 부족해도 모발

성장에 장애를 받을 수 있다[6][7]. 최근 들어 의식주 전반에 걸쳐 자연에 가까워지려는 웰빙이 각광을 받고 있으며, 추세에 따라 사람들은 인공적인 제품보다 자연친화적인 제품을 추구하고 있다. 탈모에 관련된 제품 역시 우리에게 친숙한 천연소재들로 많이 개발되고 있으며, 탈모 또는 두피 관리에 대해 다양한 방법으로 접근하고 있음에도 불구하고[8][9], 검증 되지 않는 민간요법 등의 남용으로 인해 부작용의 우려가 매우 크다.

밀은 전세계 인구의 약 40%가 주식으로 이용하고 있으며 대표적인 3대 작물에 속한다[10]. 그리고 품종이나 재배지에 따라 차이가 있으며, 국산밀의 경우 일반적으로 전분 70%, 단백질 12% 내외, 수분 12%, 지질 2%를 함유하고 있다[11]. 밀 배아에 들어있는 비타민(vitamin) E는 혈액의 응고를 방지하고 혈전 등이나 암의 원인이 되는 체내의 산화자용을 억제함으로써 성인병을 예방하고 노화를 방지한다고 알려져 있다[12].

밀싹(wheat sprout or wheat grass)은 밀이 발아하는 과정에서 밀의 마디부위가 생성되기 전의 어린 새싹을 말한다[13]. 밀싹에는 amino acid, mineral, vitamin, chlorophyll 등의 영양소가 풍부하며 뛰어난 항산화능을 가지고 있다[14][15][16]. 또한, 밀싹 주스에서 hemoglobin 수치를 높여줘 빈혈환자에 도움이 되는 것으로 밝혀졌으며[17], β-thalassemia라는 지중해성 빈혈환자에게 매우 좋은 효능이 있다[18]. 뿐만 아니라, 밀싹 주스 복용시 노인성 백내장을 감소시키고[19], 암세포 성장을 억제시켜 암 치료제의 보조제 역할을 하며[20][21], 항산화 작용이 뛰어나 노화방지 효과[22]가 있다.

따라서 본 연구에서는 천연물로써 밀싹 추출물이 모발 성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 in vitro 실험을 통해 항염증을 확인하였고, in vivo 실험을 통해 발모 효과와 면역반응에 대한 연구를 수행하고자 하였다. 밀싹을 응용하여 발모관련 연구는 국내에서 처음 시도됨에 따라 본 연구의 결과를 토대로 미용 산업에 다양한 측면에서 기초적인 자료로서 충분한 가치가 있을 것으로 사료된다.

## 2. 연구동향

탈모증이란 정상적인 피부에서 비정상적으로 모발이 빠지는 질병이다[23]. 과거에 탈모는 노화현상으로 인식되어 왔으나 최근에는 유전적 요인과 함께 스트레스, 서구화된 식습관, 영양 불균형, 사회활동의 변화 등 다양한 원인으로 탈모가 진행됨이 밝혀지고 있다[24]. 현재 우리나라의 탈모 연령대는 점점 낮아지고 있으며 20~30 대의 젊은층[25] 뿐만 아니라 적게는 10대 청소년들도 탈모로 고민하는 경우가 많다[26]. 탈모가 유발되면 외모 중심의 현대 사회에서는 심리적 불안감과 위축감[27], 대인기피증, 무기력증 등으로 삶의 질이 저하될 뿐만 아니라 점차 사회적으로 고립되어 간다[28]. 이러한 탈모 증상의 치료 방법 중 현재까지 알려진 치료로는 약물 복용 또는 도포 요법, 광선 치료, 면역 치료, 모발 이식술 등이 있다[29]. 세계적으로 남성형 탈모증 치료에 minoxidil 도포제의 사용을 승인한 이후, 동·서양을 막론하고 경구 finasteride 제제와 함께 남성형 탈모증의 주된 치료제로써 사용되고 있다[30].

발모기전은 명확히 밝혀지지 않았지만 혈관 확장을 통한 영양공급 증가 및 칼륨 통로를 여는 효과 등이 모발 성장을 유도하는 것으로 알려지고 있다[31]. 그러나 약물요법은 장기간 사용해야하고 심혈관계 장애, 피부자극, 성기능 감소, 기형유발[32], 가려움증, 홍반, 표피박리, 건성화 피부염과 같은 여러 가지 부작용을 동반하기 때문에 최근에는 천연물에 대한 관심이 고조되고 있다[33].

최근들어 탈모 성장에 관한 천연물의 연구로는 찔레뿌리 추출물[34], 사삼 추출물[35], 참당귀 분획물[36], 해조류 추출물[37], 발효 맥문동[38], 양파 추출물[39], 상황버섯 추출물[40], 토사자 추출물[41], 하수오 추출물[42], 골쇄보 추출물[43], 측백엽 추출물[44], 신응양진단 가미방 추출물[45]과 같은 연구 등이 활발히 진행되고 있다.

모발의 성장은 성장주기에 따라 호르몬(hormone), 성장인자(growth factor) 또는 사이토카인(cytokine) 등의 다양한 신호전달인자(signal transduction

factor)가 작용하여 조절된다[46]. 한편 탈모기전과 면역반응에 대한 상관관계는 매우 밀접하고 Fig. 1-1과 Fig. 1-2와 같이 급성염증반응과 만성염증반응에 대한 연구들이 활발히 진행됨을 알 수가 있다.

염증반응은 피부손상 후에 일어나는 생리적 현상으로 상처치유와 회복과정이 필요한 반응이다. 피부에서 외부손상이나 알러지 반응에 의해서 일어나는 피부염증반응은 국소 호르몬 역할을 하는 생리활성물질인 eicosanoid와 관련이 있다[47]. Phospholipase A2는 막지질에 결합된 arachidonic acid를 분리하고, cyclooxygenase(COX), prostanoid synthases, lipoxygenase 및 cytochrome P450 enzymes에 의해서 leukotriens, PG 및 thromboxane으로 합성한다. Arachidonic acid는 COX에 의해서 $PGH_2$로 전환되고, PGH2는 각각의 PG synthase에 의해서 $PGE_2$, $PGD_2$, $PGF_2\alpha$ 및 $PGI_2$ 등으로 합성되어 피부의 항상성 유지와 염증반응유발의 조절에 이용되고 있다. COX는 COX-1과 COX-2 등 2가지 동종효소(isozymes)가 알려져 있는데, COX-1은 constitutive gene으로서 정상 생리반응에 주로 관여한다. 그리고 COX-2는 inducible gene으로 염증반응시에 유전자 발현이 증가되어 염증반응 유발에 관여하며, LPS, IL-1 및 TNFr에 의한 염증반응은 COX-2의 발현 증가와 관련이 있는 것으로 알려져 있다. $PGE_2$는 피부의 케라틴세포(keratinocytes)와 섬유모세포(fibroblasts)에서 $PGH_2$로부터 PGE synthases에 의해서 합성되어 면역반응을 유발하는 작용을 하고, $PGD_2$는 피부의 Langerhans cells 과 비만세포(mast cells)에서 $PGH_2$로부터 PGD synthases에 의해서 합성되어 면역반응을 억제하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다[48]. 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (15-PGDH)과 같은 새로운 티아졸리디네디온계(thiazolidinedione) 유사체 억제제를 합성한 화합물들은 A549 세포에서 $PGE_2$의 수준을 증가시켰으며, 기니피그(guinea pig)의 정맥에 적용시켜 HaCaT 세포의 융합 단층을 분석한 결과 스크래치 상처에 대해 상당한 치유결과를 나타내었다[49].

$PGF_2\alpha$는 피부의 전체 세포에서 발견되며 $PGH_2$로부터 9,11-endoperoxide

reductase에 의해서, $PGE_2$로 부터 9-ketoreductase에 의해서 합성되며 염증반응과 면역반응에 관여하며 소실된 모발의 재성장에도 작용을 하는 것으로 알려져 있다[50][51]. $PGF_2\alpha$의 epimer 형태인 11-epi-$PGF_2\alpha$는 $PGD_2$로 부터 11-ketoreductase에 의해서 합성된다[50]. 남성형 탈모증 환자의 탈모부위 피부의 $PGD_2$ 이 증가되어 $PGD_2$가 탈모 유발과 관련이 있는 것으로 알려지고 있다[52][53]. 아토피성 피부염은 유전적 및 환경적 요인이 작용하여 피부 방어기전이 약화되어 나타나는 피부의 만성염증성 질환이다. 아토피성 피부염증에서는 PG 중에서는 만성 염증에 관여하는 것으로 알려진 $PGD_2$가 관여하는 것으로 알려져 있다[54].

이와 같이 탈모방지와 발모에 대한 생화학 및 약리학적 선행연구는 오래전부터 수행되어 약제들이 개발되고 있음에도 불구하고 정확한 기전이 밝혀지지 않고 효용면에서 만족스러운 결과를 얻지 못하거나 탈모개선에 대한 결과가 미미한 정도이다[55].

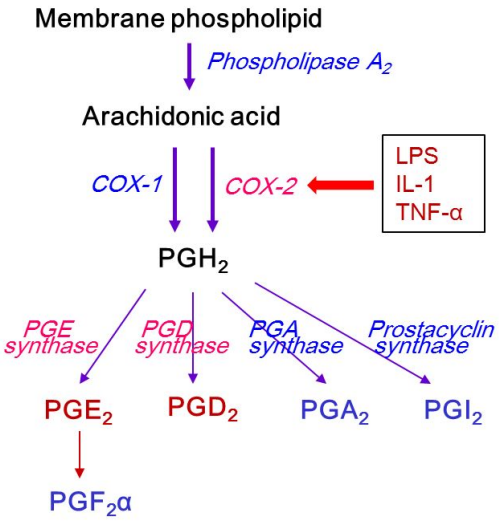



Fig. 1-1. Simplified diagram for prostaglandin production. Arachidonic acid is first oxidized into $PGH_2$ by cyclooxygenases (COX-1 and -2), $PGH_2$ is then transformed into $PGI_2$, $PGD_2$, $PGE_2$ or $PGF_2\alpha$ respectively by PGI synthase, PGD synthase, PGE synthases.

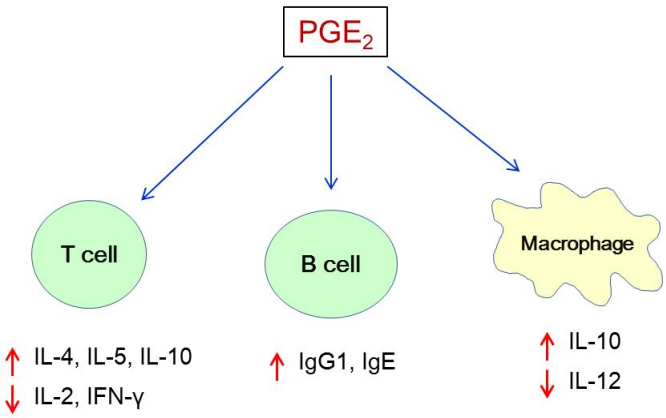



Fig. 1-2. Diagram for $PGE_2$ (prostaglandin synthases) regulation.

# 3. 연구 목적 및 내용

본 연구에서는 천연물인 밀싹 추출물을 이용하여 모발성장에 어떠한 영향을 미치는지에 대해 실험적 연구를 다음과 같이 수행하였으며 연구의 모식도는 Fig. 1-3과 같다.

1) 밀싹 문헌적 고찰을 통해 최근 연구 동향과 밀싹에 어떠한 성분들이 생리활성에 작용하고 있는지에 대해 main components를 조사하였다.
2) 일반적인 식물 배양기에 국산밀 4품종과 수입밀 4품종의 성장을 비교함으로써, 밀이 잘 자랄 수 있도록 기존 식물배양기에 맞춤형으로 재설계하여 재배조건을 확립하였다.
   맞춤형 식물 배양기에 수급률이 용이한 금강밀(국산밀)을 선택하여 버려지는 폐자원인 원두커피 부산물로 식물재배 가능성을 확인하였다. 이는 폐자원에 대한 활용에 가치를 확인함으로써, 환경과 경제적인 면에서 유용할 것으로 사료된다.
3) 밀싹 추출물의 hydrophobic 층을 이용하여 RAW 246.7 대식세포에서 MTT assay와 NO assay 방법으로 세포 생존률과 염증반응에 대해 실험하였다. 실험은 total 층, EtOAc 층, n-BuOH 층, open column을 이용해 좀 더 세분화하여 분획물 fraction 1, fraction 5, fraction 8에 대해 세포 독성과 염증반응을 확인하였다. 그리고 밀싹 추출물이 iNOS의 발현에 어떤 영향을 미치는지 RT-PCR과 Western Blot으로 측정함으로써, 함염증에 대한 효과를 확인하였다.
4) 밀싹 추출물의 C57BL/6 mouse를 통해 모발 성장에 어떤 영향을 미치는지에 대해 실험적 연구를 수행하였다. 실험은 4주(28일) 동안에 육안적 관찰, 경추 도살 후 hematoxyline & eosin, toluidine blue 염색법을 통해 조직학적인 분석을 함으로써 밀싹 추출물이 모발성장을 촉진하는지에 대한 연구를

수행하였다.

5) 밀싹 추출물이 두피 면역에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 BALB/c mouse에 DNCB(2, 4-Dinitrochlorobenzene)를 이용해 인위적으로 아토피를 유발 시켰다. 밀싹 추출물을 아토피가 일어나고 있는 mouse의 경피(두피)에 어떤 영향을 미치는지에 대해 육안적 관찰과 hematoxyline & eosin, toluidine blue, cytokine의 염증 변화를 확인하였다.

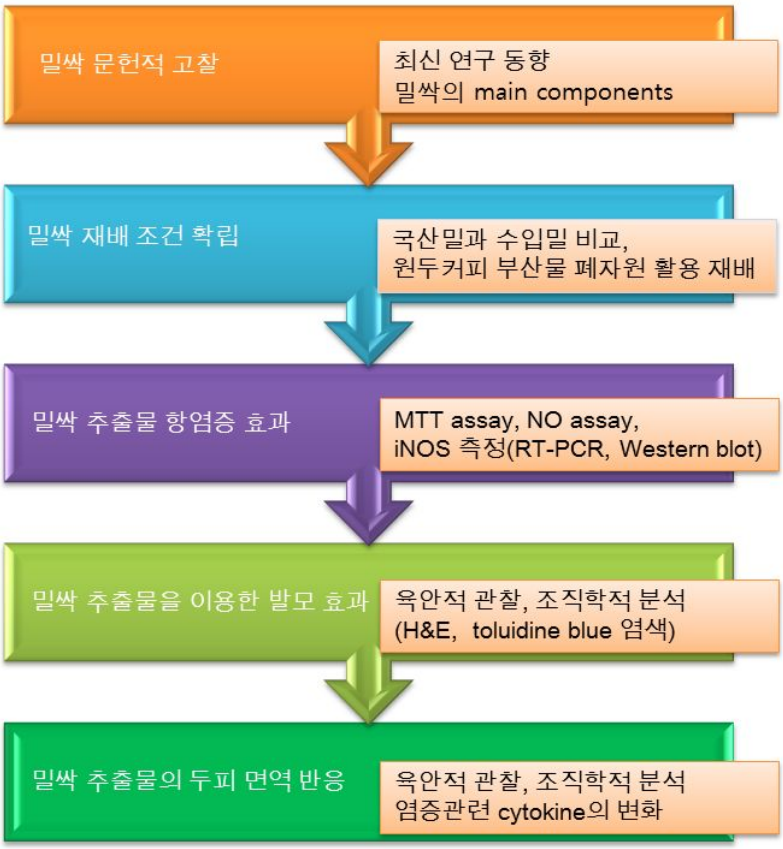



Fig. 1-3. Schematic diagram of the study.

# 제 2 장 연구이론

## 1. 모 발

### 1.1 모발

모발의 어원(etymology of hair)은 문헌적으로 12세기 이전 머리카락을 뜻하며, hair는 고대 영어의 h[AE]r에서 유래됨을 찾아볼 수 있다[56].

모발은 손톱, 양모, 동물의 발톱, 새의 깃털과 유사하게 cystine 아미노산이 풍부한 섬유성 단백질인 keratin이 주성분이다. Cystine의 이황화 결합은 모발에 유연성을 부여하고 나머지 케라틴 섬유는 모발에 기계적인 강도(mechanical strength)를 부여한다[57]. 사람의 모발은 일반적으로 태생기에 약 500만 개의 모낭(hair follicle)이 형성되고 그 중 10만개는 두부(scalp)에 존재하며, 태생 후에는 새로운 모낭이 형성되지 않고 androgen의 영향을 받아 단지 그 크기만 변화한다[58]. 신체 전 부위에 500만 개의 모낭이 경모(TH)나 연모(VH)를 포함하고 있고, 두피 1 cm당 대략 460개 정도의 모낭수로서 하나의 모낭에는 하나의 피지선이 단위를 이루고 있다. 이들 묶음 단위인 모낭지선(pilosebaceous, PSU)은 때때로 하나 이상의 섬유질로 구성된다[59].

모발을 이루고 있는 원소에는 탄소(C) 45.2%, 수소(H) 6.6%, 산소(O) 27.9%, 질소(N) 15.1%, 황(S) 5.2%을 포함하고 있으며, 이중에 가장 핵심적인 원소는 탄소이다. 모발의 80~90%는 케라틴 단백질로 아미노산이 50개 이상이 모여서 단백질을 구성한다. 모발은 18종의 아미노산으로 구성되어 있으며 특히 cystine을 많이 포함하고 있다. Cystine 아미노산은 모발 중에 함유하고 있는 아미노산 가운데 가장 높은 비율(16%)을 차지한다[60]. 모발의 외부형태 분류는 직선모

(straight hair), 파동모(wavy hair), 곱슬모(curly hair), 양모(woolly hair), 말린모(peppercorn hair)로 구분된다[61].

## 1.2 모발의 생성

모발은 최초로 모낭(hair follicle)이 만들어졌을 때 발생이 시작되고 모낭을 구성하는 세포는 표피의 기저층에서 유래된 것이다. 표피는 태생 초기 6~7 주에 1개 층의 세포 배열이 생기며 수개월 후 배아층, 중간층, 주피층의 3개 층으로 분화된다[62].

모낭 형성이란 모낭이 생성되거나 성장하는 것을 말하고, 모낭은 모발의 성장을 위한 기본단위이다. 모낭은 모낭 덩어리에서 자라나게 되는데 한 덩어리는 2~5 개의 모낭으로 이루어져 있다[63]. 이중 전모아기에서는 모아기의 형성 개시 단계를 걸쳐 배아층 세포와 주피의 2층으로 구성하고, 모아기에서는 배아층이 진피층에 침입하여 발달된 중간층 세포가 배아층 세포 속으로 진입한다. 모항기에서는 유두가 될 간엽성 세포 집단이 형성되며, 모구성 모항기는 모구가 형성이 되고 모낭 기둥 후면에 두 개의 세포 집단이 부풀어 있어 상부는 피지선의 근원이 되고 하부는 팽륜부로 나중에 입모근이 부착된 장소 과정을 거쳐 모낭이 완성된다[64].

## 1.3 모발의 구조 및 기능

모발의 구조는 Fig. 2-1과 같이 크게 모간부와 모근부로 분류하는데 모간부는 피부 표면으로부터 외부로 나와 있는 부분을 말하고 모근부는 피부 속에 묻혀 있는 부분을 말한다[65]. 피부의 외부에 나와 있는 모간은 모발의 대부분을 차지하고 있으며, 모발은 모수질(medulla), 모피질(cortex), 모표피(cuticle)의 3층으로 이루어져 있다[66]. 모수질(medulla)은 모발의 중심부에 원통형(속이 비어 있는 상태) 부위로 죽은 세포들이 모발의 길이 방향으로 불연속으로 다각형 세포들의 형상으로 존재하며, 아주 가는 연모에는 존재하지 않고 굵은 경모에만

존재한다[67]. 모피질(cortex)은 피질세포와 세포간 결합물질로 구성되어 있으며, 모표피의 안쪽 부분에 있고, 각화된 케라틴 단백질의 피질세포(cortical cell)가 모발의 길이 방향으로 비교적 규칙적으로 배열된 세포 집단으로써 모발의 85~90%를 차지하고 있다[68]. 또한, 모피질에는 모발에 탄력을 부여해 줄 뿐만 아니라 멜라닌 색소에 의해 모발의 색을 결정해 주며, 수분을 일정하게 유지시켜주는 성질이 있다[69]. 모표피(cuticle)는 최외층을 구성하고 있는 모표피 세포는 편평하고 핵이 없는 판상의 세포로서 마치 지붕위의 기와장을 위쪽에서 아래쪽 방향으로 겹쳐놓은 것과 같거나 또는 물고기 비늘처럼 구성되어 있다[70].

모근부의 모낭(hair follicle)은 모근을 감싸고 있는 세포층으로 모낭에는 피지선과 입모근이 부착되어 있다. 모구(hair bulb)는 모근의 아래 부분에 원형으로 부풀려져 있는 부분으로 모세혈관, 모유두, 모모세포 등이 위치하고 있다[71].

모유두(dermal papilla)는 피부 진피 중 모낭 및 부분에 유두모양의 돌기로써 모발성장의 근원이 된다. 모유두는 수많은 혈관 조직과 세포로 이루어져 있으며 모발의 모체에서 세포분열이 이루어진다. 각 세포는 분열을 통해 자세포를 만들어 내고 이는 다음 세포의 형성에 의해 자연적으로 위로 밀려 올려진다. 이렇게 올라간 세포는 모근의 위쪽에서 점진적으로 케라틴 연결을 형성하여 모발을 구성하게 된다. 피하조직에서는 기저세포가 매 457시간에 한 번씩 세포분열을 하는 반면, 모유두에서는 39시간에 한 번씩 세포 분열을 한다. 이는 지금까지 알려진 최고 속도이다. 모근은 모유두 중간 부위에서 가장 두꺼운 넓이를 이루고 이 부위에서 경계선을 기점으로 케라티노사이트로와 멜라노사이트가 확장 분열한다[72]. 모모세포(hair mother cell)는 모발의 기원이 되는 세포로 모유두 위에 접해 있고 모세혈관으로부터 영양분을 공급받아 세포분열이 왕성하게 일어난다.

내・외근초(inner outer root sheath)는 새롭게 만들어진 모발이 완전히 각화되어 밖으로 나갈 때 까지 보호하고 함께 운반하는 역할을 하며 모발이 피부 밖으로 나오게 되고 이들 세포층도 비듬이 되어 소멸한다[73]. 모발의 성장은 어

떤 요소가 모발성장의 핵심부인 모낭의 진피유두(dermal papilla, DP)에 영향을 주고, 영향을 받은 모낭의 진피세포인 DP 세포들은 다시 그것을 둘러싸고 있는 모낭의 상피세포에게 성장인자 혹은 저해인자를 방출하여 성장 혹은 퇴화상태로 순환한다[74]. 이러한 모발의 기능으로는 두피를 보호하고 체온을 유지하는 등의 신체보호의 역할을 하고, 모발손상의 주요 원인은 화학적, 물리적, 환경적, 생리적 요인 등으로 분류할 수 있다[75].

## 1.4 모발의 주기

모발은 한번 생성되면 일생동안 자라는 것이 아니라 성장하고 탈락하는 단계가 있는데 이를 모발 주기 또는 헤어 사이클(hair cycle)이라 한다. 이러한 모발 주기는 Fig. 2-2와 같이 성장기 단계(anagen stage), 퇴행기 단계(catagen stage), 휴지기 단계(telogen stage), 발생기 단계(new anagen stage), 총 4단계로 구분된다.[76].

성장기 단계(anagen stage)는 모유두에 있는 모모세포는 신속하게 유사분열을 진행시킨다. 이때 딱딱한 케라틴이 모낭 안에서 만들어지고 성장기 단계(anagen stage)의 수명은 3~6 년이며 전체 모발의 약 88%를 차지한다[77]. 퇴행기 단계(catagen stage)에서는 대부분 모낭 내 각질형성세포의 세포자살(apoptosis)이 일어나고 멜라닌 색소의 생성중단, 세포 외 기질이 재구성과 함께 모유두의 수축이 일어나게 되고, 전체 모발의 약 1%를 차지하면서 수명은 약 2~3 주이다[76][78]. 휴지기 단계(telogen stage)는 모유두가 위축되고 모낭은 차츰 수축이 되며 모근은 위쪽으로 밀려 올라가 빠지는 시기로 모낭의 깊이는 1/3로 되어 있다. 휴지기 단계(telogen stage)에서 모모세포가 활동을 시작하면 새로운 모발로 대체되고, 수명은 3~4 개월로서 전체 모발의 약 11%를 차지하고 약한 브러싱으로도 쉽게 빠진다. 발생기 단계(new anagen stage)는 휴지기 단계(telogen stage)에서 입모근 근처까지 올라갔던 모낭이 진피 내에 있는 모유두까지 내려오기 시작하고, 모구부와 모유두가 결합하여 새로운 모발이 형성하면서 기존의 모발을 밀어 올려 탈모시키는 시기이다[79].

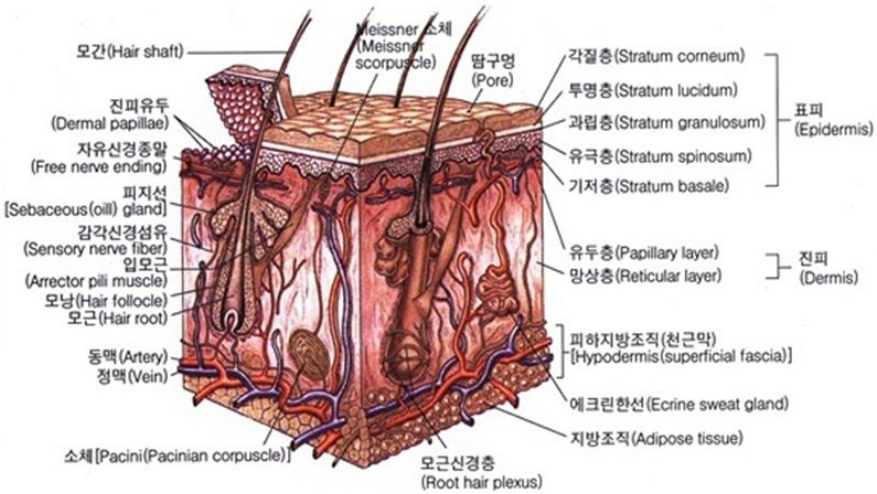



Fig. 2-1. The structure of. hair[67].

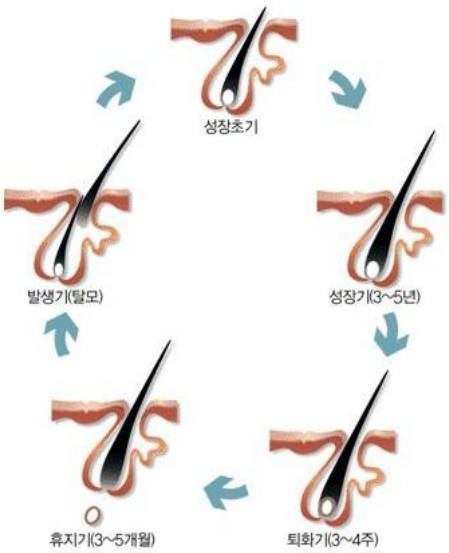



Fig. 2-2. The hair growth cycle[76].

# 2. 두 피

## 2.1 두피

두피(scalp)는 해부학적으로 전면의 얼굴(face), 후면과 측면의 목(neck)과 경계되는 모발(hair)로 덮여있는 특수화된 조직으로 되어 있다[80]. 두부를 보호하고 있는 두피는 모근부와 한선(소한선)이 발달되어 있으며 뇌를 외부의 충격이나 압박으로부터 보호하고 인체의 중금속을 체외로 배출하는 등 모발의 생성에 깊이 관여하는 부분이다[81]. 두피는 두개골(skull)의 체표를 덮고 있는 두피 조직으로써 물리·화학적인 방법이 가해지는 외계로부터 뇌를 보호한다. 이러한 두개피(scalp hair)는 방수성 및 탄력성이 있는 단단한 외피와 그 아래 외피를 지지하는 진피, 피하지방조직, 두개건막, 결합조직, 두개골로 구성되어 있다[82]. 두개골 바로 밑에 있는 섬유질의 질긴 경막(duramater)과 뇌의 많은 틈새를 연결하고 있는 지주막(arachnid membrane) 그리고 불규칙한 뇌 표면을 구석구석 덮고 있는 견고하고 빈틈없는 유막(pia mater)의 3중 두개건막이 두개골을 보호하고 있다[83].

해부학적으로 두개골은 뇌를 보호하고 8개의 뼈로 구성되며, 두 개의 마루뼈(두정골, parietal bones), 1개의 뒤통수뼈(후두골, occipital bone), 2개의 관자뼈(측두골, temporal bone), 접형골(sphenoid bone), 하나의 벌집뼈(사골, ethmoid bone)로 구성된다[84]. 두정골(parietal bones) 위에 모상건막이 자리 잡고 있는데 모상건막은 머리 덮개근 또는 머리 넓힘줄이라는 뜻으로 두피의 두정골 부분을 싸고 있으면서 전두근, 측두근, 후두근을 잡고 있다. 이 모상건막은 스스로 움직이지 못하기 때문에 근육에 의해 움직여지고 스트레스나 다른 원인들로 의해 여러 근육이 잡아당겨지면 두개골 뼈와 두피의 피부 사이에서 아주 얇아져 모발에 뿌리가 얕아지기 때문에 탈모현상을 가져오는 것이다[85][86]. 특히, 모발은 생체 조직과 모발이 복합체로 이루어져 있어 생물학적, 물리·화학적 환경 변화에 대한 영향을 받기 쉬운 두피와 연결된 부분은 비생물학적 오염이나 생물

학적 감염에 대한 예방이 필요하다[87][88].

모발의 표면은 죽은 세포로 구성된 다층 편평형의 문리(紋理) 구조로 겹쳐지는 정도에 따라 큐티클의 형태적인 특징과 표면의 돌기와 홈이 형성되어 세균과 먼지 등의 미세입자가 부착하기 용이하다는 특징이 있으며, 땀과 피지 그리고 체온에 의한 열은 두피 내의 미생물 생장에 필요한 환경조건을 형성한다[89]. 생리적·구조적 측면에서 봤을 때 두피는 모발과는 달리 살아 있는 세포로 이루어져 있으며, 혈관과 림프조직이 분포하고 있어 면역학적 보호의 범주에 속한다[90].

## 2.2. 두피의 구조

피부(skin)는 신체의 외부를 둘러싸고 있는 조직으로 비교적 유연하고 질긴 구조를 하고 있으며, 표피(epidermis), 진피(dermis), 피하조직(subcutaneous) 순으로 되어 있다. 성인의 피부 표면적은 약 1.6~1.8 $m^2$ 나 되며 중량은 체중의 15~17%로 인체 기관 중에서 가장 크다. 두께는 연령, 성별, 부위별로 다르지만 표피의 평균 두께는 약 1.2 mm 정도이며, 진피를 합쳐 약 2.2 mm 정도이다. 가장 두꺼운 곳은 손바닥과 발바닥으로 약 6 mm 정도이며 가장 얇은 곳은 고막, 눈꺼풀, 음경, 음낭 등으로 약 0.5 mm 정도이다[91].

표피(epidermis)는 최외층을 이루는 세포층이며, 3개의 층중에서 가장 얇은 층이다. 표피는 외배엽에서 유래하였으며 대사상 활동성인 중층 편평 각화 상피(stratfied squamous cornifying epithelium)로서 주로 각질형성세포(keratinocyte), 랑게르한스세포(langerhans cell) 및 메켈(merkel cell)가 존재한다. 신체 바깥층에서부터 각질층, 투명층, 과립층, 유극층, 기저층으로 나눌 수 있다[92].

진피(dermis)는 표피와 피하지방층의 사이에 놓여 피부의 두께에 관여한다. 진피는 혈관, 모낭, 신경, 땀샘, 피지샘, 아포크린 샘이 존재하며, 비만세포(mast cell), 다형핵프구(pontecorvo-maki-nakagawa sakata matrix), 림프구

(lymphocyte), 대식세포(macrophage) 등의 면역세포도 존재한다[93]. 피하조직(subcutaneous tissue)은 지방세포의 소엽으로 구성되어 있으며, 그 두께는 신체부위에 따라 차이가 있다. 피하지방층은 외부의 물리적 자극을 완화시켜주는 충격흡수 작용, 여분의 영양소를 저장하는 영양저장 작용, 체온유지 작용을 한다[94].

## 2.3 두피의 타입별 분류

두피는 두피 내의 진피 층에 존재하고 있는 피지선의 피지 분비량, 한선의 수분량, 두피톤, 각질의 유・무 등에 의해 Fig. 2-3과 같이 크게 정상 두피, 건성 두피, 비듬성 두피, 민감성 두피, 예민성 두피 등으로 구분 할 수 있다[95].

### (1) 정상 두피

정상 두피의 표면은 투명한 청백색을 유지하고 있으며, 모공에 각질이나 피지 산화물 등이 없어 맑고 정상적인 건강한 상태이다. 모공 한 개에 2~3 본 정도의 모발이 있으며, 두피에 윤기는 흐리지만 번들거리지 않고 탄력이 있다[96].

### (2) 건성 두피

건성 두피는 피지 분비가 부족한 상태로 건조함과 약간의 가려움증을 느끼게 되며, 유분과 수분이 없어 피부표면이 거칠고 각질층들이 거의 들떠 있다. 두피 표면에 군데군데 각질이 보이며 모공 부위에 유분이 없고 많이 함몰되어 있으며, 함몰된 모공 속으로 세균이나 먼지 화학성분들이 쉽게 흘러들어가  모근세포에 악영향을 미친다[97].

### (3) 지성 두피

지성 두피는 과도한 피지분비와 노화각질의 영향에 따라 피지 산화물의 누적

원인이 되어 나타나는 유형으로 두피의 악취와 함께 염증이나 가려움증을 동반하는 특징을 가진다. 물이 고여 있는 듯한 촉촉한 상태로 정상 두피와는 달리 투명감이 없어 둔탁해 보이고 모공주변이 심하게 막혀있으며, 모발의 탄력 저하와 연모화 현상을 볼 수가 있다[98].

### (4) 예민성 두피

예민성 두피는 각종 세균이 두피에 기생하거나 화학제품에 의한 자극이 원인으로 전체적으로 붉으며 부분적으로 모세혈관 확장에 따라 열을 동반하는 등 혈액순환 저하가 나타난다. 약한 자극에도 반응을 나타내며, 심한 경우 염증성으로 발전되기도 한다. 두피의 각질이 필요이상으로 탈락되거나 두피가 강한 자극을 받았거나 스트레스 등으로 인하여 예민한 경우 두피가 전체적으로 붉은 색을 띄고 염증이 쉽게 나타나며 심각한 경우 탈모를 야기한다[99].

### (5) 비듬성 두피

비듬균(pityrosporum ovale)은 호르몬의 불균형, 유전적요인, 신경이완제를 복용하였을 때, 피젓의 과다분비, 각질주기의 이상, 스트레스, 불규칙한 생활, 불충분한 수면을 취한 경우, 잘못된 헤어케어제품의 사용 등이 원인이 된다[100].

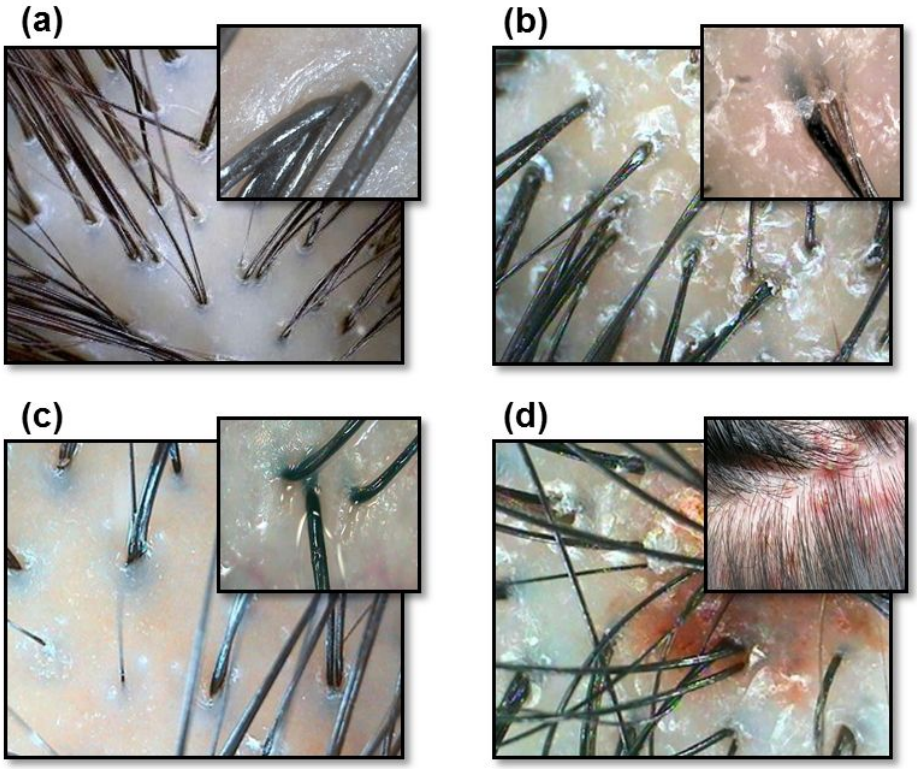



Fig. 2-3. Classified by type of scalp.

# 3. 탈 모

## 3.1 탈모

탈모는 복잡하고 다양한 내·외적인 여러 요인들에 의해 기인되나 가장 중요한 요인으로는 일차적으로 유전에 의한 요인, 남성호르몬에 의한 기전, 체질유전, 탈모를 유발시킬 수 있는 생활습관, 식습관과 주변 환경을 들 수 있으며 2차적으로 스트레스에 의해서 탈모시기가 앞당겨지는 등 여러 가지 원인들이 동반된다고 볼 수 있다[101][102]. 자연요법에서는 모발성장 주관 장부가 신장으로 신장 정기의 쇠퇴로 인체 양기가 소모되어 탈모현상이 일어난다고 본다. 폐와 대장의 균형이 깨진 경우 피부와 모근에 문제가 발생하여 대장의 건조로 인해 장내 독소가 정수리까지 올라가 두피가 습해지거나 건조해지면서 피 흐름의 부족으로 단백질 등의 영양공급이 원활하지 못하게 된다고 하였다[103]. 일반적으로 모발은 약 3~5 년 자란 후에 빠지고 3개월 후에 빠졌던 바로 그 자리에 새로운 모발이 자라나는데 문제성 탈모라는 것은 1년만 자란 후에 모발이 빠지는 현상으로 하루에 빠지는 모발의 개수가 정상적인 상태의 60~80 개 보다 훨씬 많은 100여개 이상이 빠지는 증상이다[104].

과거에 사회적인 통념상 남성들은 여성에 비해 외모에 대한 관심을 밖으로 표출하지 않는 것이 이상적인 것으로 여겨왔지만, 특히 오늘날의 탈모 증상은 심리적 요인과 사회적 요인에 의하여 영향을 받아 자신의 외모가 다른 사람과 다르다는 것을 인식했을 때 정신적인 스트레스로 인한 불안 및 우울증상 등이 나타날 수 있을 것으로 본다[105][106]. 이로 인해 탈모를 가진 사람들은 일반인들에 비해 결혼이나 취업 등의 사회활동에 부정적 이미지를 형성하여 불이익을 받는다고 생각하고, 대인기피증, 무기력증 등으로 삶에 질이 저하될 뿐 아니라 사회적으로 고립되어져 간다[107].

## 3.2 탈모의 유형

### (1) 남성형 탈모증(androgentic alopecia)

남성호르몬의 작용기전은 혈중은 테스토스테론(testosterone)이 표적 세포(target cell)에 들어가 5α-reductase에 의해 보다 강력한 형태의 남성호르몬인 DHT로 전환되고 남성호르몬 수용체와 결합해 특정 유전자 발현을 촉진 또는 억제시키는 것으로 1976년 Vera Price에 의해 알려졌다. 따라서 남성형 탈모의 예방과 치료를 위하여 천연 물질을 이용해 Testosterone 5α-reductase의 활성을 억제시키고자 하는 노력이 활발히 이루어지고 있다. 가장 대표적인 탈모로서 고농도 남성 호르몬인 DHT 모낭 내에 있는 bald-head 유전인자의 수용체가 결합하여 일으키는 것으로 있기 때문에 남성형 탈모라 부른다[108].

### (2) 여성형 탈모증

여성형 탈모증은 남성 탈모증과 달리 가르마를 기준으로 하여 모발의 밀도가 점차적으로 연모화 되는 탈모 유형이며, 남성형 탈모증의 원인과 같이 유전적인 요인과 남성호르몬의 작용, 나이의 영향을 받는 안드로겐성 탈모에 속한다. 종류로는 결발성 탈모증, 산후 탈모증, 약물에 의한 탈모증, 폐경에 의한 탈모증, 과도한 다이어트에 의한 탈모증 등을 예로 들 수 있다[109].

### (3) 원형 탈모증

원형 탈모증은 수염이나 눈썹 등이 원형이나 타원형으로 빠지는 경우를 말하며, 정확한 원인은 밝혀지지 않았으나 유전적 요인, 스트레스, 면역기능의 이상에 기인한다고 추정하고 있다. 경우에 따라서 치료 없이 재생되기도 하지만 재발하는 확률이 높고 치료에 잘 반응하지 않는 경우가 많다[110].

### (4) 소아 탈모증

소아성 탈모증은 유전적 혹은 스트레스, 식생활의 변화, 출생 시 두피 및 두상에 대한 압박 등이 원인이 되는데, 특히 스트레스 부분이 가장 크게 차지한다. 부모의 잘못된 육아 방식과 불안정한 양육, 학원에 대한 스트레스 등을 받게 된다. 소아성 탈모증의 경우 원형탈모의 형태로 나타나는 경우가 대부분이다[111].

### (5) 휴지기성 탈모증

휴지기성 탈모란 모발의 성장주기 중에서 휴지기의 비율이 10% 이상이 되는 것으로 병적으로 이상주기를 나타내고 전체 모발의 성장주기가 빨라지는 것을 의미한다. 그래서 하루에 50~100 개가 빠지던 모발의 수가 급격히 증가하고 빗질이나 모자를 쓰거나 자고 일어났을 때 베개에 빠진 모발수가 눈에 띄게 늘어나 있으며 이러한 탈모가 6개월 이상 지속된다[112].

### (6) 산후 휴지기 탈모

이 탈모는 산후 2~5 개월에 나타나기 시작하여 주로 두발의 앞쪽 1/3 부분에서 탈모가 일어나지만 머리 전체에서 나타나기도 한다. 휴지기 모발의 비율은 24~46%이며 탈모는 약 2~6 개월 혹은 그 이상 지속된 후 정상적인 상태로 회복된다[113].

### (7) 두피의 혈액 순환 장애

모유두 속의 모모세포는 식물의 씨앗과 같은 것으로 혈행의 흐름으로 필요한 영양물질의 전달이 바로 건강한 모발과 아주 밀접한 관계를 갖고 있다. 심한 탈모자들은 대부분이 두피와 두개골이 붙어 있어 모세혈관의 압박으로 혈행이 좋지 못하여 탈모의 원인이 되고 있다[114].

### (8) 내분비(호르몬)장애로 인한 탈모증

내분비(호르몬)장애로 인한 탈모증은 모발의 성장주기의 장애로 성장기가 시작되는 것을 방해하고 휴지기의 기간을 연장시킴으로써 탈모를 유발 시킨다[115].

# 4. 면 역

면역은 외부물질 또는 세균 바이러스 원충류 및 기생충을 포함한 병원체에 대한 방어와 반응, 또한 우리 몸에서 자신의 단백질과 변형된 세포에 대하여 일어나는 반응을 말한다[116].

염증반응은 생체조직에 물리적 또는 화학적 작용, 세균감염 등이 기질적 변화를 일으키는 침습이 가해질 때 그 손상부위를 수복, 재생하려는 기전으로 활성화된 면역세포에 의해 필연적으로 일어나는 일련의 정상적인 면역반응이다[117]. 이러한 염증반응은 체내에서 발생한 산화스트레스에 의해 촉진되는데, 산화스트레스는 세포사멸뿐만 아니라 퇴행성 질환을 일으키는 특정 세포의 유전자 발현을 증가시켜 염증 반응을 개시하거나 악화시킨다[118].

대식세포는 능동 및 수동 면역반응에서 매우 중요한 역할을 하며 nitric oxide(NO), prostaglandin(PG), 그리고 proimlfammatory cytokine 들을 포함한 다양한 염증 매개 물질들을 조절한다. 염증인자인 cyclooxygenase(COX)는 arachidonic acid를 prostaglandins로 전환하는 효소로 COX-1과 COX-2로 나위어 지는데 이는 다양한 세포에서 다른 발현 경향을 나타낸다[119].

염증성 사이토카인은 감염, 외상, 염증 또는 면역반응 등의 스트레스후에 염증세포들로부터 분비되는 물질로 interleukin, chemokine, tumornecrosis facto, interferon 등이 있으며 일부는 질병을 악화시키는 역할을 하고 pro-inflammatory 일부는 염증을 완화시켜 질병을 치유하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다[120].

아토피 피부염은 유전적 원인에 의한 피부장벽 기능이상과 비정상적인 피부면역반응과 환경적 원인인 실내·외의 각종 알레르기 유발물질이 복합적으로 작용하여 발생하는 다인자성 질환(multifactorial disease)이라고 볼 수 있다[121].

알레르기 반응이란 알레르겐과 같은 비자기(non-self) 물질에 대한 병적인 과민반응이라고 할 수 있으며, 이는 Fig. 2-4와 같이 Th2 세포반응으로 대표되는

데 IL(lnterleukin)-4, IL-5, IL-13과 같은 cytokine이 관여하고 RANTES, eotaxin 과 MCP-3와 같은 케모카인이 알레르기 염증반응에 중요한 역할을 한다[122]. IL-13은 P600라는 이름으로 생쥐의 TH2 세포주에서 최초로 발견 되었으며, 대부분 TH2-차입으로 분화된 CD4+ T 세포에서 생산되는 면역 조절성 사이토카인이다. IL-17, IL-4, IL-13 등의 T세포 유래 사이토카인(cytokines)은 아토피 피부염(atopic dermatitis)에서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다[123].

원형탈모증의 발생에 유전적인 배경이 중요한 것으로 인식되고 있으며 근래에는 자가면역질환의 일종일 것으로 추측하고 있다. IL-17은 건선, 류마티스 관절염, 다발성 경화증 등의 자가면역질환의 발병에 중요한 역할을 할 것이라고 알려져 있다[124]. IL-4는 항원에 의해 자극된 CD4+ T 세포에 작용하여 Th2 형태로 분화하게 유도하며 IL-4, 5, 6, 10, 13 등을 생성하게 된다. 이들 사이토카인은 앨러지(allergy) 반응에 관여하기도 하며 INF-$\gamma$의 생성을 억제하여 면역반응을 Th2 형태로 더욱 유도하게 된다[125]. 아토피 동물모델에서 IL-17은 eosinophil과 neutrophil의 피부발진 부위로의 infiltration을 증가시키고 또한 Th17이 분비하는 CXCL1, 2, 8 등에 의해서 neurtophil들이 ALN를 통하여 피부 epidermis로 이동하게 하여 피부에서 여러 acute inflammation을 일으키게 되는 원인을 제공한다[122].

비만세포(mast cells)는 Ehrlich(1877)에 의해 처음 관찰, 명명된 이래 탈과립 유발 인자들과 억제인자들에 연구를 통하여 아토피성 피부염, 기관지 천식 및 알레르기 비염 등 여러 알레르기 질환들을 예방하거나 치료할 수 있는 적합한 약물을 개발하는데 많이 이용되고 있다[126]. 비만세포가 활성화 자극들에 의해 비만세포가 활성화 되면 많은 매개물질들이 세포 밖으로 방출되고 이들 매개물질들에 의해 다양한 알레르기 증상들이 나타난다[127].

인체의 면역은 모든 질병에 근원이며 면역과잉으로 인해 정상적인 면역체계에 이상이 생기면서 아토피를 비롯해 다양한 질병을 일으킬 수 있다. 식물체 내에는 클로로필 a, b, c, d 등의 다양한 형태의 클로로필이 존재하는데 이중

클로로필 a가 녹색 식물 클로로의 75%를 차지하는 가장 보편적이고 주요한 클로로필이다. 클로로필은 Fig. 2-5와 같이 porphyrin ring 구조 안에 마그네슘(Mg)을 가지고 있는 형태의 분자로 porphyrin ring 구조 안에 철분(Fe)을 가지고 있는 적혈구의 hemoglobin과 같은 모핵을 가지고 있어 푸른 혈액이라고 부르기도 한다[128].

피부노화를 설명하기에 적합한 노화이론은 환경기인설(environmental etiology)이다. 그 중 자외선과 호흡을 통해 생성되는 활성산소(free-radical)는 피부노화에 가장 중요한 요인으로 간주되고 있다. 이렇듯 활성산소가 피부노화의 주요원인으로 밝혀짐에 따라 활성산소를 제거하는 항산화제가 피부노화를 예방하고 지연시키는데 중요한 역할을 하고 있다[129].

최근 들어 탈모치료에 모낭세포 증식을 촉진하는 사이토카인 요법으로 모낭세포를 파괴하는 사이토카인을 억제하고 모발이 자라는데 꼭 필요한 사이토카인 성장인자를 보충하여 모발을 굵고 건강하게 하는 탈모치료요법이 진행되고 있다. 따라서 밀싹 추출물이 탈모에 원인이 될 수 있는 두피 면역 과민 반응에 어떤 변화를 가져오는지 동물 실험을 통해 확인하고자 한다.

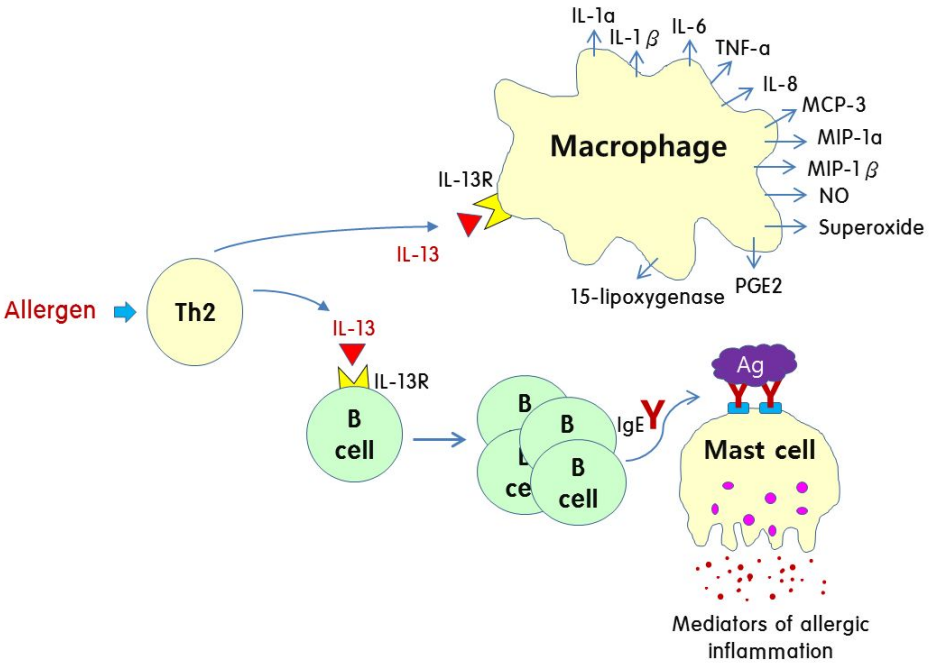



Fig. 2-4. Mechanism of immune cytokines.

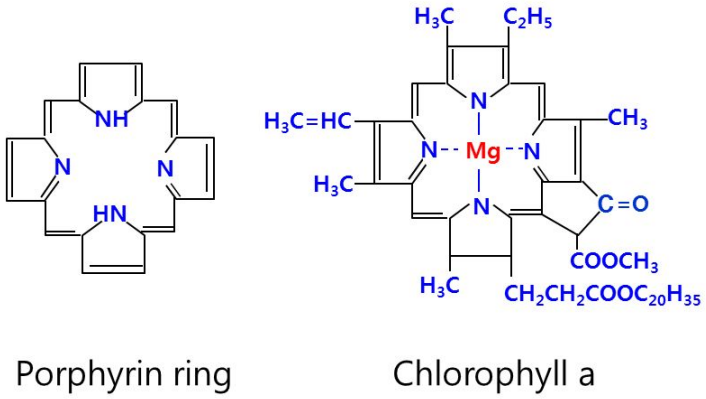



Fig. 2-5. The basic ring structure of a porphyrin ring and structure of chlorophylla.

# 제 3 장 밀싹의 문헌적 고찰

## 1. 밀

밀(wheat, Triticum spp)은 전 세계적으로 재배되는 작물로써, 벼과의 한해살이풀로 높이는 1m 내외로 소맥이라고 한다. 밀의 기원과 전파는 지중해 동쪽 해안인 옛 팔레스타인 일대와 북쪽으로 터키와 코카서스, 동쪽으로는 아프가니스탄인 지중해 성 기후지역 일대로 알려져 있고 터키의 신석기 유적 조사에서 기원전 7천년 경을 중심으로 맥류 경작이 본격화한 것으로 추정되고 있다[130]. 이러한 밀은 유럽과 아메리카 등에서는 주곡으로 이용되어 왔으며 우리나라에서도 삼한시대 이전부터 재배되어 온 것으로 추정된다[131]. 밀은 일반적으로 온대화 한냉 지역에서 재배되지만 적응성이 강하여 그 이외의 지역에서도 널리 재배되고 있다[132].

밀에 용도는 매우 다양하고 용도별로 품질기준이 까다롭게 분화되어 있으며, 일반적으로 사용되는 밀의 종류는 미국산 Triticum aestivum L.(보통밀), T. compactum Host(club 밀) 및 T. durum Desf.(듀럼밀)의 3종으로 분류하고 있고 이들의 품종이 다르기 때문에 그 용도 역시 다르다[133]. 이 중 우리나라에서 사용되는 밀은 주로 미국산 보통밀(Triticum aestivum L.)로써, 이를 세분화하면 추파밀(가을에 파종, 그 다음해 초여름에 수확)인 경질-적색밀(다목적용, 제면용), 경질 백색밀(과자, 케이크용) 또는 춘파밀(가을에 파종, 다음해 초여름에 수확)인 경질-적색밀(제빵용) 등과 1985년 이후 도입된 호주 표준 흰밀(제면용) 및 우리밀로 나눌 수 있다 [134].

국내의 연간 밀 수입량은 09/10년도 370만톤 수입하여 전세계 수입량 중 2.9% 단일 수입 국가로는 8번째로 많이 수입하고 있으며, 제분에 사용되는 밀은 주로 미국, 캐나다, 호주 3개국에서 수입되고 있다. 대표적인 밀 품종으로는

미국산 밀의 HRS(Hard Red Spring Wheat), HRW(Hard Red Winter Wheat), SW(Soft White Wheat), 캐나다산 밀, CWRS(Canada Western Red Spring Wheat), 호주산 밀, ASW(Australian Standard White), AH(Australian Haard Wheat) 등을 사용하고 있으며 2000년도 이후 국내산과 기타 국가에서 수입된 밀을 일부 가공하고 있다[135].

밀은 영양학적으로 당질 70~74%, 단백질 10~14%, 지질 1.9~2.3%를 함유하고 있으며, 티아민, 리보플라빈, 나이아신, 등의 비타민류도 풍부하다[136]. 또한 밀에 함유되어 있는 지방은 그 함량이 낮을 뿐만 아니라 지방의 불포화도가 높아 심장병의 위협인자인 콜레스테롤(cholesterol)을 감소시키는 역할을 한다[137]. 밀에 효소는 크게 탄수화물 분해효소, 단백질 가수분해효소, 에스테르 가수분해효소와 산화효소로 나눌 수 있으며 밀의 효소는 대부분 호분층, 반상체, 배아에 집중적으로 분포되어 있고 티로시나아제(tyrosinase)는 주로 표피에 분포되어 있다[138]. 밀에 있는 카로티노이드(carotenoid) 색소는 잰토필(xanthophyll)과 소량의 잰토필 에스터(xanthophyll ester), 카로틴(carotene)으로 구성되어 있고 잰토필(xanthophyll)은 대부분 루테인(lutein)과 타라크산틴(taraxanthin)이라고 보고되어 있다[139]. 또한, 밀 배아는 밀의 2~3%를 차지하며 상당량의 지방이 들어 있고 단백질, 철, 칼륨, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 E, 셀레늄 등의 영양소가 고기나 야채보다 많이 들어있다고 보고하였다[140]. 밀 배아의 지방에는 토코페놀 함량이 많아 건강식품으로서 가치가 있으며 지방산으로 리놀레산(linoleic acid)이 전체 지방산의 60% 정도를 차지하고 있다[141]. 이상덕 등에 의하면 밀 단백질을 기질로 저분자의 펩타이드(peptided)의 제조하여 실용적이고 인체에 무해한 항균제를 개발하고 식품소재로 이용가능성을 조사하기 위하여 밀 단백질인 글루텐(gluten)에 아스퍼질러스 사이토이(Aspergillus saitoi)가 분비하는 펩타이드(peptide)의 아미노산의 결합순서를 분석한 결과 시스테인(cysteine), 글리세린(glycine), 프롤린(prolin), 발린(valine), 알라닌(alanine), 아르기닌(arginine)의 순서임을 보고하였다.

## 2. 국산밀

우리나라의 밀은 1950년대까지만 해도 자급자족되어 왔으나 6.25전쟁 후 식량부족에 의한 잉여농산물이 무상 공급되고 수입밀이 도입됨에 따라 밀 재배는 극히 열악한 환경조건이 되면서 그 생산량은 미약하게 되었다[142]. 또한, 밀 재배 면적은 1980년대 정부의 밀 수매 중단으로 농가의 소득과 직결되지 못하면서 일부 농가에서 자가 소비용으로 극소수 재배되어 1992년도 재배면적이 164 ha에 불과하였다. 최근 국내산 밀의 자급률을 높이기 위해 우리밀 살리기 운동이 추진되기 시작하여 우리밀 재배 면적이 2005년 2.395 ha에서 2010년에는 1만 2000 ha로 5배 이상 증가하였다[143][144]. 국산밀산업협회에 따르면 2012년 정부 보리수매 중단에 따른 겨울 대체 작목으로 밀 재배가 확대되고 있다고 보고하였다. 정부는 2017년 자급률 10% 생산 목표를 국제 곡물가격의 급등과 식량안보의 강화 차원에서 2015년으로 단축하였다. 통계청 자료에 따른 국산밀 생산 확대는 민간 기업과 생산자 단체 주도로 추진되고 있으며, 정부는 종자개발, 저장시설 확충 등 기반조성 지원을 기본방향으로 추진하고 있다.

국내 밀 품종 육성은 1970년대부터 시작되어 최근까지 35개 품종이 개발 되었으며, 과거에 밀은 농가의 안정적 생산을 위한 수량증대가 목적이었으나 2000년도 이후에는 용도별로 적합품종을 육성중이다[145]. 이러한 밀 품종별 주요 특성은 농촌진흥청에서 발표한 Table 3-1에서 보는바와 같다. 국산밀의 유전적인 특징은 세계에서 생육기간이 가장 짧은 조숙성이며, 내한성, 내습성이 뛰어나고 특히 바람에 쓰러지지 않으며 병충해에도 강한 특성이 있다[146]. 특히, 단백질과 비타민 B1이 많고 다른 국산 곡류에 없는 글루텐이 많아 가공에 용이하며, 토양 산도(pH)가 5.0~7.0까지도 재배가 가능하다[147].

한국제분협회의 자료에 따르면, 밀에는 인체 면역체계를 활성화 시키고 미네랄과 비타민이 골고루 들어있지만 국산밀과 수입밀의 영양에 대해서는 공정과정에 따라 많이 차이가 있을 수 있고 품종에 따라 영양의 차이는 확연히 달라

진다. 농촌진흥청 국립식량과학원 2013년 밀의 주요 특성을 분류한 자료에 따르면 제면용과 제빵용, 제과용, 혼반용, 사료용 등으로 간략하게 구분한 내용은 Table 3-2와 같다. 품종별 밀가루의 화학성분은 patent flour를 사용하여 분석한 결과를 보면 조 단백질 함량은 국산밀 중 금강밀, 알찬밀 및 그루밀이 13.50~13.07%로 수입밀인 DSW(Dark Northern Spring)의 14.36%보다는 적었으나 ASW(Australian Standard White)의 10.12%보다는 높아 은파밀과 탑동밀은 건면 국수제조용으로 분류할 수 있다. 한편 회분함량은 밀가루 품질을 결정하는 중요한 요소로서 우리나라 밀가루 검사규격에 의하면 회분함량이 0.5%미만일 때는 박력 또는 중력 1급, 0.55~0.75% 일 때는 강력 또는 준강력 2급 밀가루에 해당 되므로 그루밀, 탑동밀, 알찬밀 및 금강밀은 강력 또는 준강력 2급으로 분류할 수 있다.

Table 3-1. Key characteristics of wheat varieties

| 품종명 | 지정 년도 | 출수기 (월.일) | 성숙기 (월.일) | 간장 (cm) | 천립중 (g) | 내한성 | 내도 복성 | 품질(%) | | 수량성 (kg/10a) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | 제분률 | 단백질 함량 | 전작 | 답리작 |
| 올 밀 | 1976 | 5.50 | 6.13 | 85 | 34.0 | 중 | 약 | 62.9 | - | 46 | 384 |
| 그루밀 | 1978 | 5.20 | 6.90 | 71 | 43.8 | 강 | 강 | 68.9 | 12.6 | 35 | 451 |
| 다홍밀 | 1979 | 4.28 | 6.80 | 76 | 29.1 | 중 | 중 | 65.0 | 8.7 | 59 | 393 |
| 청계밀 | 1979 | 4.29 | 6.80 | 74 | 31.1 | 중 | 중 | 66.2 | 7.8 | 475 | 446 |
| 은파밀 | 1982 | 5.10 | 6.11 | 76 | 34.9 | 중 | 강 | 70.7 | 11.0 | 525 | 395 |
| 탑동밀 | 1986 | 5.30 | 6.11 | 71 | 37.0 | 강 | 강 | 70.7 | 10.5 | 511 | 470 |
| 남해밀 | 1988 | 5.20 | 6.11 | 81 | 36.0 | 중 | 중 | 70.6 | 8.7 | 545 | 541 |
| 우리밀 | 1992 | 4.27 | 6.70 | 79 | 36.8 | 강 | 강 | 64.4 | 7.4 | 583 | 529 |
| 올그루밀 | 1993 | 4.26 | 6.80 | 80 | 43.2 | 강 | 강 | 65.5 | 9.0 | 518 | 477 |
| 알찬밀 | 1994 | 4.30 | 6.11 | 69 | 33.4 | 강 | 강 | 68.7 | 8.6 | 590 | 426 |
| 고분밀 | 1996 | 4.30 | 6.11 | 65 | 38.1 | 강 | 강 | 70.4 | 10.3 | 632 | 478 |
| 금강밀 | 1997 | 4.29 | 6.90 | 72 | 48.0 | 중 | 중 | 71.8 | 12.2 | 613 | 422 |
| 새올밀 | 1998 | 4.28 | 6.90 | 66 | 32.0 | 중 | 중 | 75.0 | 10.4 | 530 | 532 |
| 서둔밀 | 1998 | 4.27 | 6.80 | 74 | 37.2 | 중 | 중 | 66.3 | 9.8 | 524 | 485 |
| 진품밀 | 1999 | 5.10 | 6.11 | 71 | 37.2 | 강 | 강 | 71.7 | 9.1 | 619 | 540 |
| 밀성밀 | 1999 | 4.27 | 5.28 | 70 | 32.7 | 약 | 강 | 69.2 | 11.2 | 659 | 524 |
| 조은밀 | 2000 | 4.21 | 5.29 | 74 | 37.0 | 강 | 강 | 67.0 | 10.9 | 524 | 414 |
| 조품밀 | 2001 | 4.20 | 6.10 | 64 | 37.4 | 중 | 강 | 72.1 | 11.5 | 524 | 454 |
| 안백밀 | 2001 | 4.30 | 6.80 | 70 | 45.0 | 중 | 강 | 72.5 | 10.3 | 581 | 542 |
| 신미찰밀 | 2002 | 4.24 | 6.30 | 73 | 38.0 | 중 | 강 | 61.5 | 11.5 | 618 | 533 |
| 조농밀 | 2003 | 4.17 | 5.30 | 67 | 43.2 | 중 | 강 | 69.1 | 13.3 | 640 | 465 |
| 조경밀 | 2004 | 4.19 | 6.20 | 81 | 44.6 | 약 | 중 | 72.0 | 12.6 | 571 | 519 |
| 연백밀 | 2005 | 4.23 | 6.40 | 77 | 38.9 | 강 | 강 | 70.9 | 11.0 | 638 | 587 |
| 신미찰1호 | 2006 | 4.30 | 6.90 | 79 | 31.8 | 강 | 강 | 66.2 | 10.9 | 567 | 558 |
| 백중밀 | 2007 | 4.29 | 6.70 | 77 | 39.8 | 강 | 강 | 72.4 | 8.8 | 524 | 535 |
| 적중밀 | 2007 | 4.28 | 6.70 | 77 | 40.1 | 강 | 강 | 69.2 | 8.9 | 588619 | 533 |

Table 3-2. Applications with Korean Wheat products

| 밀의 주요특성 | 품종명 (육성년도) | 수 량 (kg/10a) | 적응지역 | 용 도 |
|---|---|---|---|---|
| 제면용 | 수한(2012) | 510 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 | 제면용(생면) |
| | 다중(2010) | 543 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 지역 | 제면용(생면용) |
| | 수안(2009) | 563 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 지역 | 국수용(생면용) |
| | 수강(2008) | 472 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 지역 | 제면용 |
| | 한백(2008) | 505 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 | 제면용 |
| | 백중(2007) | 535 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 | 제면용(생면용) |
| | 적중(2007) | 533 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 | 제면용 |
| | 연백(2005) | 567 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 | 제면용(국수용) |
| | 금강(1996) | 422 | 전국 (산간고랭지 제외) | 제빵용, 건면용 |
| 제빵용 | 조경(2004) | 519 | 전국(산간지 제외) 1월 최저 평균 기온 -8℃ 이상 | 제빵용(제빵력 양호) |
| 제과용 | 조아(2011) | 644 | 전국(중산간지 제외) 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 | 과자용(케이크) |
| | 고소(2010) | 545 | 전국(중산간지 제외) 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 | 제과적성이 우수함. 과자용 |
| 혼반용 | 백찰(2012) | 483 | 전국(중산간지 제외) 1월 최저 평균 기온 -8℃ 이상 지역 | 혼반용 |
| 사료용 | 청우(2009) | 684 | 1월 최저 평균 기온 -10℃ 이상 지역 | 총체밀 담근 먹이용 |

Table 3-3. Chemical compositions of wheat varieties

(Unit : %)

| 품종 | 수분 | 조단백 | 조지방 | 회분 |
|---|---|---|---|---|
| 그루밀 | 11.84 | 13.07 | 1.17 | 0.56 |
| 은파밀 | 13.94 | 11.17 | 0.89 | 0.47 |
| 탑동밀 | 12.39 | 12.86 | 0.63 | 0.56 |
| 알찬밀 | 11.90 | 13.20 | 0.58 | 0.64 |
| 금강밀 | 13.94 | 13.50 | 1.23 | 0.61 |
| ASW | 9.63 | 10.12 | 0.98 | 0.24 |
| DNS | 11.81 | 14.36 | 0.84 | 0.30 |

동의보감에서 우리밀의 질병 치료에 대한 유용성으로 파상풍의 치료는 밀과 볶은 소금을 각각 한줌씩 섞어 가루를 낸 다음 물로 개어서 바르면 매우 좋은 효과를 얻을 수 있다고 하였으며, 또한 식중독, 황달병, 발의 물집, 부스럼, 임질 및 종기의 치료에 매우 효과적이라고 하였다[148]. 밀의 PBS(Phosphate Bbuffered Saline) 추출물이 수입산밀에 비해 국산밀이 높은 항산화를 있음을 보고하였으며, 우리밀 EA(Ethanol-acetic Acid) 추출물이 대식세포의 식작용 활성을 증강시킴을 확인하였다[149]. 식생활의 다양화로 밀을 이용한 가공품의 소비는 계속 증가하고 있으나 국내에서 소비되는 밀은 대부분 수입한 외국산 밀에 의존하고 있는 실정이다. 이러한 수입밀은 변질방지를 위해 살충제, 살균제, 방부제 등의 다양한 농약을 사용하기 때문에 건강에 해로울 뿐만 아니라 외화지출이라는 부담으로 작용하고 있다[150].

최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 올바른 식생활에 기준으로 수입산 밀보다 안전성이 높은 국산밀에 대한 선호도가 더 높아지고 있다. 우리나라 밀 재배는 전라남도 광주광역시를 포함하여 전국 대비 밀 생산 비율이 50%를 차지한 전국 최대의 생산 기반을 보유하고 있다. 특히 밀 생장에 맞는 최적조건 및 지리적 특성을 가지고 있어 지역 연고 산업 활성화가 매우 유용하다.

# 3. 밀 싹

## 3.1 밀싹 (wheat sprout or wheat grass)

밀싹(wheat sprout or wheat grass)은 Fig. 3-1과 같이 밀의 어린 새싹 즉, 발아하는 과정에서 밀에 마디 부위가 생성되기 전의 어린 새싹을 말한다. 밀의 싹이 발아한 후 수일 동안 모든 유효성분이 다량으로 생성되기 때문에 밀싹은 다양한 유효성분이 다량 함유되어 있다. 밀싹은 대기중의 $CO_2$를 자당형태의 가용성 탄수화물로 동화하여 저장하는 동시에 산소를 배출함으로써 대기 정화에도 큰 역할을 하는 이용가치가 높다고 보고하였다[149]. 식물 종자는 발아가 진행되면서 생리활성이 증대되고 성분의 변화가 일어나는 성숙한 채소에 비하여 훨씬 많은 비타민, 무기질, 아미노산 등의 기능성 및 생리활성 물질을 다량 함유하게 되며, 특히 발아채소에 많은 식이 섬유소는 섭취량이 증가할수록 담즙을 통한 콜레스테롤의 배설이 촉진되기 때문에 고지혈증을 비롯한 심혈관계 질환으로 예방 효과가 보고되고 있다[151].

밀싹은 대략 10일정도 실내 화분에서 자란 싹들로써 이러한 종류는 신선한 주스를 만들기에 적합히고 밀싹재배용기에서 자란 싹들은 주로 치료 목적으로 사용된다. 노지에서 60일 이상 된 밀싹들은 분말이나 알약으로 만들어 영양보충제로 이용되어지고 있다[152]. 밀싹은 분말 또는 착즙하여 영양부족 및 성인병 등의 건강기능성 보조식품으로 많이 이용되고 있으며, 밀 잔디 쥬스 치료를 이용해 궤양성 대장염의 치료에 대해 연구한 결과는 전반적인 질병활동 지수와 직장 출혈 정도가 감소하였으며, 부작용은 발견되지 않았다고 보고하였다[153]. 지중해성 빈혈은 평생혈액이 필요하고 건강을 유지하기 위해 골수이식이 이루어진다. 밀싹에 함유되어 있는 엽록소는 헤모글로빈과 유사구조를 가지고 있어 정기적으로 수혈하고 있는 지중해성빈혈환자에게 6개월간 쥬스를 음용한 후 혈액, 혈청, 등의 임상실험 결과 통계상 유의함을 입증하였다[154]. 그리고 밀싹 쥬스를 지중해성 빈혈환자에게 임상실험한 결과 50% 이상의 환자가 수혈 지연에 도움이 되

었으며, 혈액에 유익한 효과가 있다고 하였다[155]. 이러한 밀싹은 밀이 발아하여 성장하는 기간동안에 칼슘, 칼륨, 나트륨이 증가함을 보고한바 있다[156].

지금까지 국내 연구는 밀에 대한 연구가 대부분이며 밀을 이용한 제품, 품종별 성분 분석 등에 비중이 높으며 밀싹에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 현재 유통되고 있는 밀싹 국내·외 제품들에 유형은 다음과 같다. 먼저 국외 제품으로는 미국에서 밀싹을 주원료로 하는 에너지파우더, 자몽과 밀싹이 함유된 향초, 밀싹파우더 형식의 종합영양제, 밀싹을 분말시켜 캡슐화 된 건강보조 식품 등이 있고, 프랑스에서는 모이스처 립밤, 캐나다는 올리브 오일과 밀 단백질이 함유된 미용 비누, 그리스 및 유럽은 밀 단백질 성분을 이용한 미용 클렌징, 호주에서 더마휫스킨 리커버리크림 및 수제비누 등이 상품화 되어 있다.

국내 제품 현황으로는 폼, 바디클렌저, 주방세제와 비누, 20가지 이상이 함유된 아미노산 비누, 피부보습과 피지제거 등의 효능이 있는 미용비누, 밀싹(밀순) 생즙판매, 팥과 콩 밀 그리고 밀 등을 혼합해 제조한 샴푸제품 등으로 몇 개 안되는 제품들만이 유통되고 있음을 확인 할 수가 있었다. 특허청에 등록된 국내 밀싹 관련된 특허는 총 25건이며, 이중 다른 제품과 혼합된 화장료 조성물에 관련된 분야는 총 6건으로 밀싹을 이용한 단일 특허는 없는 상황이다. 그 외 19건은 식품관련으로 발효, 김치관련 및 건강보조제 조성물로 이루어져 있다.

최근 들어 건강 관심이 높아지면서 생즙에 관심을 보이고 있으며, 이로 인해 밀싹을 재배하거나 재배된 밀싹을 구매하여 주스를 만들어 음용하고 있다. 그러나 재배 기준이 정확하지 않고 밀싹에 들어 있는 어떠한 유용성분이 인체에 유익한 생리활성 물질이 함유 되어 있는지에 대한 자료가 매우 미비한 실정이다.

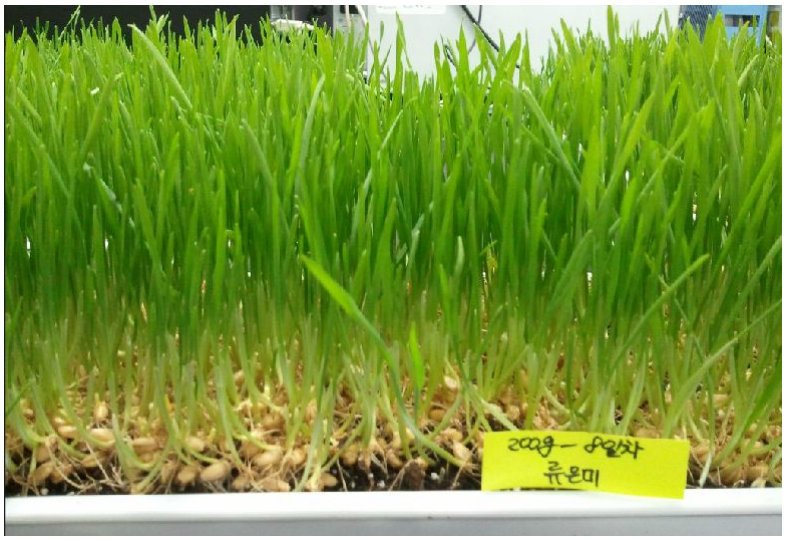



Fig. 3-1. Wheat sprout used in this study.

## 3.2 밀싹의 유용성분

밀(*Triticum aestivum* L.)은 밀 자체의 원물자체인 seed, flower, leaf, root, stem 등을 구분하여 유용성을 연구하고 있다. flower에 해당되는 밀싹에 해당되는 국내연구는 매우 미흡하나 국외에서는 밀싹에 대한 연구가 최근 활발히 진행되고 있다. 밀싹 연구로는 Fig. 3-2와 같이 bio-medicine, food, cosmeting, health care, diagnosis, nanomaterials, antioxidant 등에 연구가 진행되고 있다.

밀싹의 유용성에 대한 실험은 다음과 같다. 밀을 선별하고 소독하여 파종한 후 밤 낮의 광주기 조건이 설정된 growth chamber 내에서 8일 동안 생장시킨 후 밀싹을 잘라낸 후 Nitric Oxide의 공여체인 10 u M SNP(sodium nitroprusside)를 처리구에서 엽록소와 단백질 함량의 감소가 지연되었고 MDA 함량의 증가속도는 억제되었다[22]. 두 종류의 밀싹(cvs Demir 2000과 Konya 2002)은 9일 동안 습도 85%, 17℃에서 재배하여 채취한 후 건조시켜 분쇄하였다. 밀싹을 재배하면서 α-tochpherol 미네랄들, 지방산 함량을 분석 한 후 두 종의 밀 cvs Demir 2000과 Konya 2002의 α-tochpherol 함량은 각각 26.99와 23.77 mg/kg이였고, 밀싹은 각각 54.62와 47.19 mg/kg 이였다. 미네랄 분석에서는 발아중인 밀싹의 미네랄 함량이 증가함을 보여주었다. 발아중인 밀싹에서 cis-18:1과 cis, cis-18:2 지방산이 감소하는 동안 4:0, 6:0, 8:0, 10:0 지방산은 발견되지 않았지만 이미 알려진 18:3 n3(ω-3, omega-3)은 증가하였다. 그 결과, 밀씨 발아를 오래 시킬수록 몇몇 중요한 기능 물질이 증가한다는 것을 보여주었다[157]. Caspase 3는 아포토시스(apoptosis)에 결정적인 효소이다. 5 μg GAE/mL 폴리페놀 분획물(polyphenol fraction)은 Caspase 3 활성을 조금 올려주고 15 μg/mL 프로테인분획물(protein fraction)은 48시간 후에 약 40% 증가, 이 두개를 같이 넣었을 때는 약 20% 증가하며 전체 밀싹 추출물 28 μg GAE/mL을 넣었을 때는 오히려 감소함을 확인하였다[158][159]. 밀싹의 수용액 ethanolic extracts의 항산화 활성은 주로 glycoside와 polyphenolic compound의 환원에 의한 것이라고 보고하였다[22]. 밀싹에 포함된 glycoside 분자에 의한 항

산화능이 superoxide-scavenging 활성이 일어나서 DNA 산화에 손상을 저해한다고 하였다[160]. 밀싹 추출물의 항돌연변이 활성은 chlorophyll이 아니고 일종의 glycoside인 apienin-shaftoside의 플라보노이드 일종임을 밝혔다[161].

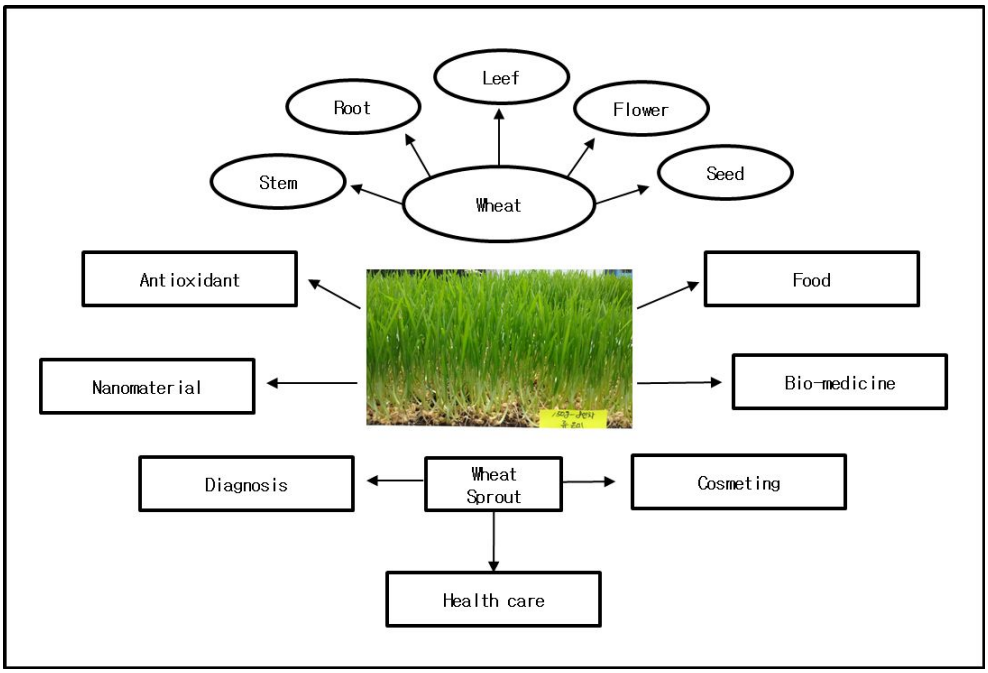



Fig. 3-2. Application of wheat sprout.

## 3.3 밀싹의 생리활성

### (1) 항산화

현재 노화 지연에 대한 관심이 많아짐에 따라 산화를 억제하는 자연 친화적인 재료에 대해 높은 관심을 보이고 있다. 신선한 과일이나 채소, 그리고 약용식물 또는 자연에서 채취가 가능한 모든 천연제품을 이용해 산화를 억제하는 항산화성분에 대한 연구에 많은 관심을 보이고 있다.

산화적 스트레스란 생체 내에서 일어나는 산화 작용에 의해서 산소와 영양물질이 반응하여 에너지를 만드는 대사과정에서 생산되는 체내 활성 산소종(reactive oxygen species ; ROS)이 과다하게 생성되거나 항산화 시스템의 기능이 저하되면서 체내의 산화계와 항산화계의 불균형에 의해 발생하는 것이다[162]. 활성산소는 정상 세포막과 세포를 손상시키며, 피부를 구성하는 콜라겐을 산화시켜 노화를 촉진하고 DNA를 손상시켜 암을 유발하는가 하면 세포막의 불포화지방산을 산화작용을 통해 이물질로 바꿔 동맥경화, 뇌졸중 등 질병을 야기한다고 알려져 있다. 따라서 항산화물질은 여러 가지 질병 치료제뿐만 아니라 건강기능식품, 향장품 등의 소재로 광범위하게 연구되고 있다[163]. 생체에서 발생하는 활성산소와 관련된 대표적인 산화물질은 산소에서 유래된 singlet oxygen, superoxide radical, 과산화수소(hydrogen peroxide), hydroxylradical, peroxyl radical, alkoxyl radical과 질소에서 유래된 nitric oxide와 peroxynitrite 그리고 myeloperoxidase에서 생성되는 hypochlorous acid 등이 있다[164][165].

밀 발아과정 6~10일은 일반적으로 wheat grass라 하는데 이때 비타민, 미네랄, 페놀플라보노이드를 포함한 화합물의 합성이 최대에 도달한다고 보고하였다[166]. 밀싹 추출물을 이용해 CME(K562) 세포주를 이용해 세포사멸 및 항산화 활동연구에서 만성골수성 백혈병 세포주 증식 억제하고 세포사멸이 되므로 백혈병(CME)의 치료를 위한 접근이 가능할 것이라고 하였다[22]. 밀싹 에탄올 추출물에 의해 페놀화합물의 플라보노이드가 다량 함유되어 산화를 억제시킨다고

보고하였다[167]. Wheat grass 쥬스에는 카로티노이드(carotenoids)와 플라보노이드(flavonoids)와 같은 항산화 물질이 풍부하고 비타민(vitamins) C, 비타민(vitamins) E를 증가시켜 혈청 콜레스테롤(cholesterol) 농도를 낮춘다고 하였다[168].

밀싹 추출물 β-thalassemia라고 하는 지중해성 빈혈환자에게 매우 좋은 효능이 있다고 보고되어 있을 뿐 만 아니라, 노화 방지제로 좋은 효능이 있음이 알려져 있다[169]. 또한, 카탈라아제(catalase) 및 퍼옥시데이즈(peroxidase) 활동이 아주 강해 노인성 백내장을 많이 감소시키며 강력한 항산화분자가 즙에 많이 포함되어 있다는 연구결과가 발표되었다[170]. 그리고 밀싹 추출물이 DNA의 산화적 손상을 억제한다고 하였다[171]. 밀싹 쥬스를 호르몬 주기가 유사한 젊은 여성에게 10 mL 씩 복용시킨 후 0, 3, 7, 14 일 아침 첫 소변을 받아 분석 한 결과 환경호르몬으로 알려진 endocrine disrupting chemicals(EDCs)의 bisphenol A의 독성을 해독한다고 보고하였다[172].

(2) 항암

밀싹으로 만든 쥬스의 고형분 함량 70%는 엽록소이다. 이러한 '엽록소는 식물의 생명의 피'라고 언급하고 헤모글로빈과 거의 동일한 화학구조를 가지고 있어 생체내의 혈액을 정화 시켜줌으로써 혈액순환에 도움을 준다. 밀싹쥬스를 이용해 유형이 다른 말기암 환자 유방암(Breast 20%), (Oesophagaus 11%), 대장암(Colon 9%), 난소(Ovary 8%), 간세포암(Hepatocellular carcinoma 6%), 위(Stomach 6%), 기타(others 15%), 다른 유형의 암(cancers wer Lung 25%)를 6개월 동안 30 mL 씩 음용하게 만들었다. 그 결과 헤모글로빈 수치와 총 단백질 및 알부민이 크게 향상됨을 확인하였다[173]. 사람의 대장선암 세포(human colon adenocarcinoma (Caco))를 이용한 실험에서 20S proteasome 활동의 활성화와 세포내 산화단백질의 증가를 보여줬다[174]. 밀싹 쥬스의 효과를 이용해 밀싹에 포함되어 있는 프로테아좀(proteasome)이 암치료제의 보조제 역할에 가

능성을 제시했고[175]. 그리고 HeLa cancer cell의 성장 억제 효과, 대장암에도 효과가 있다고 보고되기도 하였다[176][177]. 최근 연구에 따르면 항산화제들은 대식세포 등에 작용하여 면역작용을 억제시킴으로써 아토피 피부염에 효능을 나타낸다고 보고되어 있으며, 고립구의 활성화 억제를 통해 과도하게 활성화된 면역체계를 진정시키는 효과를 가지는 것으로 알려져 있다[178].

### (3) 항당뇨, 고혈압

당뇨병은 혈중 포도당의 수준을 정상화하는데 인슐린의 분비저하 및 인슐린 작용의 결함에 의해 발생된다. 밀싹 추출물이 STZ(streptozotocin)로 유발한 당뇨흰쥐에서 혈당저하에 미치는 영향을 밝히고 혈중 포도당 농도, 체중 변화, 사료 및 음료수 섭취량, 혈중 인슐린 농도의 변화를 조사한 결과는 다음과 같다. 체중이 당뇨대조군에서 4 g 이상 감소하는 반면 밀싹 추출물군에서 2.9 g 감소하였으며, 음용수 섭취결과 밀싹 추출물군에서 유의적 감소와 인슐린 감수성에 대한 관찰결과 모든 실험군에서 높은 값을 보였다. 이는 밀싹 추출물은 당뇨병의 혈당저하 및 당뇨병으로 인해 발생하기 쉬운 합병증의 개선에 도움이 될 것이라고 보고하였다[179]. 일반 밀싹에 신선한 쥬스는 인도에서 민간요법으로 관상동맥 질환과 여러 질병에 건강을 향상시키는 보조제로 사용되고 있다. 고지혈증은 관상동맥 질환에 주요 위험 요인과 사망의 주요원인이다[180]. 또한, 밀싹 쥬스를 이용해 성인병의 원인인 고지방혈 또는 지방 과잉혈(hypolipidemia)에 조절할 수 있을 것이라고 보고하였다[181]. 밀싹 추출물의 연구는 항암활성, 항궤양 활성, 항산화 활성, 혈류 개선으로 크게 4가지로 구분할 수 있었으며 중요한 main components를 Table 3-4와 Fig. 3-3에 나타내었다.

Table 3-4. The medical application of wheat sprout extracts

| Activities | Health effects | Main components | Mechanism | Application | Ref. |
|---|---|---|---|---|---|
| Anticancer activity | Reduce myelo-toxicity and need for granulocyte colony stimulating factors (GCSF) support | Polyphenols; Orthophenolics; Oligosaccharides; glucans | Wheat grass juice (WGJ) for chemo-therapy FAC (5 - fluorouracil, doxorubicin and cyclophospamide) | Breast carcinoma | (182) |
| | Decreased cancer causing ability of chemical mutagens | Vitamins; alkalizing minerals; Chlorophyll. | Degenerate chemical mutagens | Cancer | (183) (184) |
| | Reduce the cancer risk | Carotenoids; phenolics; flavonoids. | Chlorophyll derivatives | Liver, stomach and gastrointestinal cancer | (185) |
| | Anticancer activity (with non chlorophyll containing Wheat sprout extract ) | Methylated phenolics; omega-3 fatty acids | Reduce the production of carcinogenic, aromatic hydrocarbon derivative, by inhibiting benzopyerene mutagenecity | Cancer | (186) |
| Anti-ulcer activity | Anti-stomach ulcer activity | Heteroxylan polysaccharide | Water-soluble derivatives of chlorophyll | Cyst wounds, fistula-in-ano, sarcoma/ carcinoma, ulcerative colitis, thoracic empyema. | (187) |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Both anti-inflammatory and antioxidant properties | Glucan; arabinoxylans; alkaloids; troponoids | Wheat grass juice rich in bioflavonoid as therapy for ulcerative colitis | Inhibit tumour necrosis factor (TNF) induced transactivation | (188) (189) |
| Antioxidant activity | Preventing oxidative damage to deoxyribonucleic acid (DNA) and lipid peroxidation | Insoluble-bound phenolics; Ferulic acid dehydrodimers | Mimics glutathione transferase activity as an effective iron chelator | Reducing serum ferritin in myelodysplastic syndrome | (190) (191) |
| | Lipid per oxidation and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) | Polyphenolic flavonoids; glucosinolates; feruloylated oligosaccharides | Antioxidant enzyme super oxide dismutase (SOD) converts dangerous free radical reactive oxygen species into hydrogen peroxides | Kill cancer cells | (192) |
| | Decrease in the disease activity index | β-carotene, α-carotene, and β-cryptoxanthin | Uncooked vegetarian diet rich in lactobacilli | Decreased subjective symptoms of rheumatoid arthritis | (193) |
| Blood building activity in Thalassemia major | Lower transfusion requirements in thalassemics | Chlorophyll; Flavonoids; indoles | Wheat grass juice | Transfusion dependent Beta-Thalassemia | (194) (195) (196) |

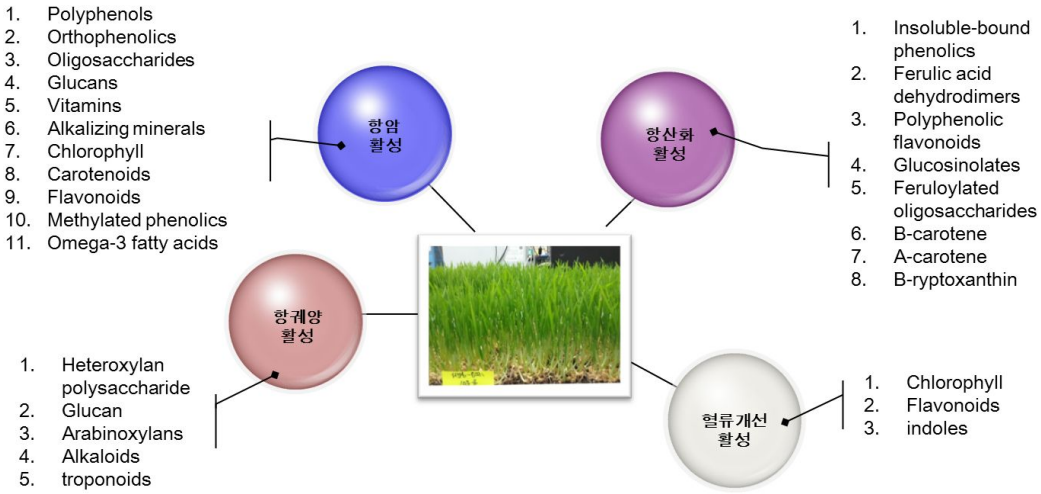



Fig. 3-3. Main compounds of wheat sprout.

# 제 4 장 밀싹 재배 조건 확립

## 1. 국산밀과 수입산밀의 성장 비교

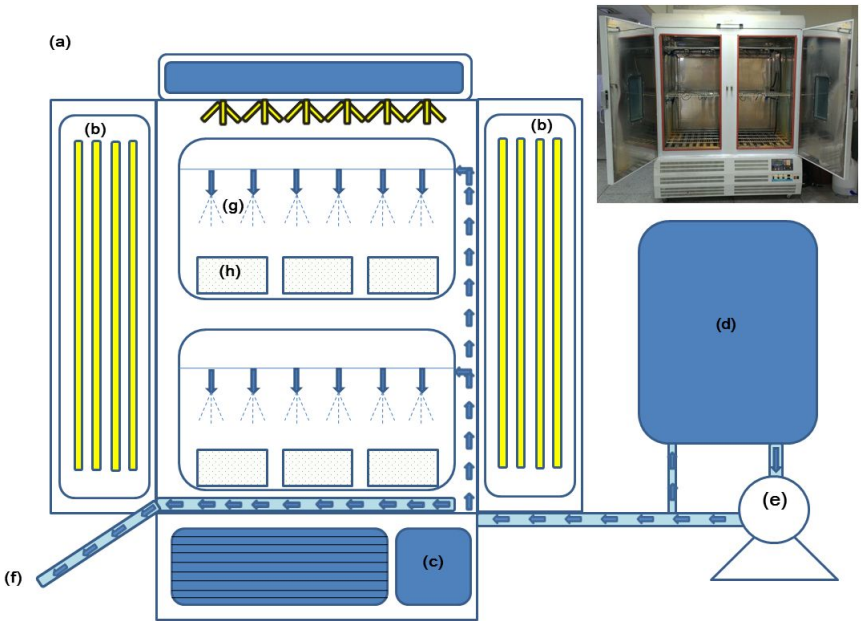
### 1.1 실험재료

실험에 사용된 밀은 국산밀 4품종과 수입산밀 4품종으로 총 8품종을 사용하였다. 국산밀의 종류는 금강밀, 우리밀, 백중밀, 조경밀을 국립식량과학원에서 제공 받았다. 수입산밀의 종류는 캐나다산(ZCW), 미국산(NS), 미국산(WH), 중국산으로 한국제분(당진공장)에서 제공 받았다. 식물배양기는 Fig. 4-1과 같이 CHAMBER(Dasolltd, Korea), vernier callipers(Guanglu, Guilin, China), 모판, 토사, 분무기 등은 재료상에서 구입하여 사용하였다.

### 1.2 실험방법

#### (1) 배양기 조건

배양기 조건으로는 국내의 밀 심는 시기는 상경(음력 10월 23일)에 맞추기 위해 광주광역시 기상청에 평균 온도와 습도 및 광주기를 확인한 후에 배양기에 상경 시기와 동일하게 설계하였다. 배양 및 파종 조건으로는 온도 23℃, 습도는 60%, 광주기는 밤 10시간, 낮 14시간으로 맞춰 배양기 조건을 설정하였으며, 물은 배양기 안에 자동 가습라인을 설치해서 1일 3회 10초 동안 각각의 밀에 동일한 양에 물이 분사 될 수 있도록 하였다.




(a) growth chamber (b) light source (c) control panel (d) water tank
(e) pump (f) drain (g) water spray (h) wheat sprout

Fig. 4-1. Schematic diagram of plant growth chamber used in this study. Inset: photograph of plant growth chamber.

### (2) 국산 밀싹과 수입산 밀싹의 재배방법

밀싹의 재배방법은 Fig. 4-2와 같이 밀을 각각 100 g씩 정량하여 수돗물에 4~5 회 세척한 후 1차 증류수에서 6시간 동안 불려 놓는다. 불린 밀은 물을 제거한 후 용기에 담아 2시간에 한 번씩 분무기로 수분을 공급한 후 마르지 않도록 48시간 동안 거즈로 덮어 놓으면 싹이 트기 시작한다. 모판에 토사를 2/3정도 채운 후 그 위에 싹이 트인 밀을 골고루 뿌린 다음 밀이 보이지 않을 정도로 토사를 덮는다. 총 8개의 모판이 세팅 된 배양기에 넣어 12일 동안 성장 두께, 성장 폭, 성장 길이를 오후 6시, 동일 시간대에 관찰하여 기록하였다. 재배 12일째 밀싹 뿌리를 제외하고 잎 부분을 채취하여 자연 건조하였다.

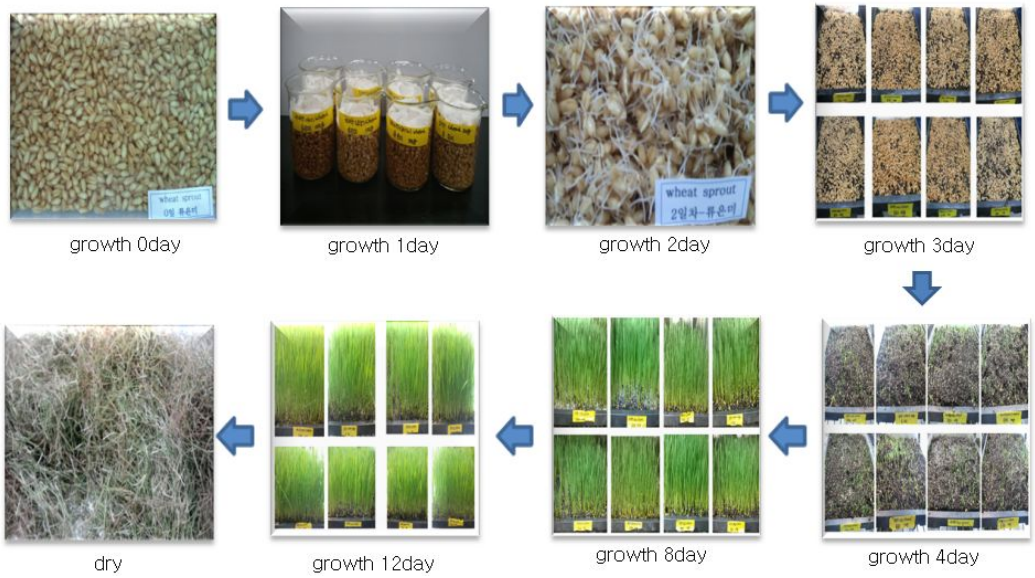



Fig. 4-2. The process of wheat sprout growth.

## 1.3 실험 결과 및 고찰

### 국산 밀싹과 수입산 밀싹의 재배 결과

국산밀 4품종과 수입산 밀 4품종을 동일 조건에서 재배하여 성장 과정을 12일 동안 관찰하였다. 성장 비교는 vernier callipers를 이용해 밀싹에 대한 두께, 폭, 길이를 측정하여 평균 성장량을 Table 4-1에 정리하였고, Fig. 4-4, 4-5, 4-6과 같이 비교하였다. 밀싹의 성장의 두께는 백중밀이 0.21±0.021 mm이었고, 폭은 국산밀인 조경밀이 3.80±0.334 mm로 우수하였으며, 성장 길이에서는 수입산 ZCW(캐나다산)가 19.07±3.456 mm로 우수함을 보였다. 그러나 수입산 밀은 Fig. 4-3과 같이 곰팡이와 갈변현상이 일어남을 확인 할 수 있었다.

본 연구에서는 국산밀 중 수급이 용이하고 재배결과에서 다른 밀들과 큰 차이를 보이지 않은 금강밀을 선택하여 실험에 사용하였다.

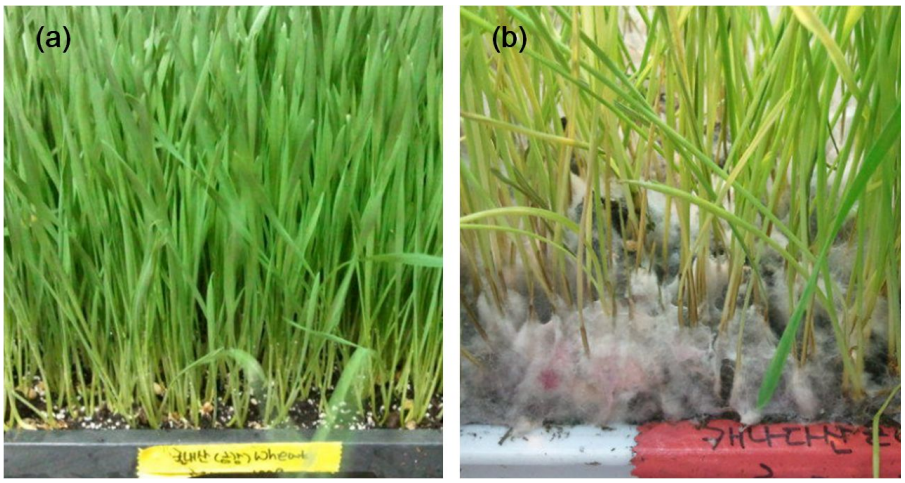



Fig. 4-3. The comparison of imported and domestic wheat.

(a) *Keumkang* wheat (Korea), (b) ZCW (Canada).

Table 4-1. Growth results of imported/domestic wheat

| Sample | | 두께 (mm) | 폭 (mm) | 길이 (mm) |
|---|---|---|---|---|
| 국산밀 | 금강밀 | 0.20±0.015 | 3.60±0.695 | 16.20±4.950 |
| | 우리밀 | 0.20±0.010 | 3.74±0.302 | 14.53±3.950 |
| | 조경밀 | 0.22±0.010 | 3.80±0.334 | 15.03±2.532 |
| | 백중밀 | 0.21±0.021 | 3.48±0.507 | 15.93±2.926 |
| 수입산밀 | NS (미국) | 0.18±0.020 | 3.56±0.343 | 18.07±4.424 |
| | WH (미국) | 0.20±0.026 | 3.00±0.541 | 14.83±3.326 |
| | 중국산 | 0.20±0.010 | 3.60±0.547 | 16.20±2.663 |
| | ZCW (캐나다) | 0.19±0.021 | 3.37±0.494 | 19.07±3.456 |

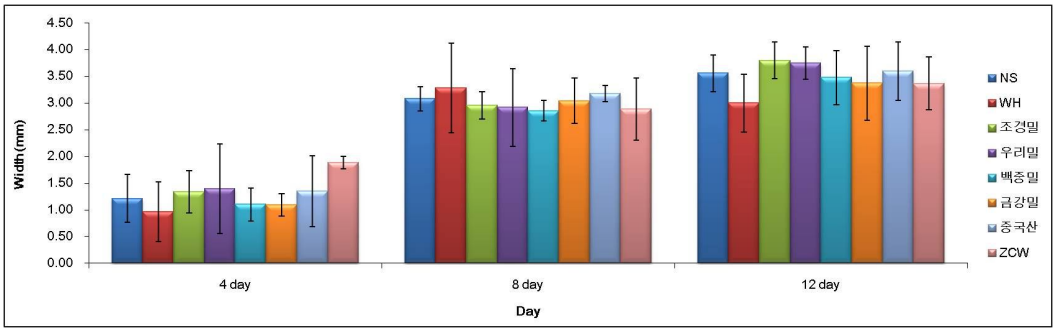



Fig. 4-4. The comparison of imported and domestic wheat on widths.

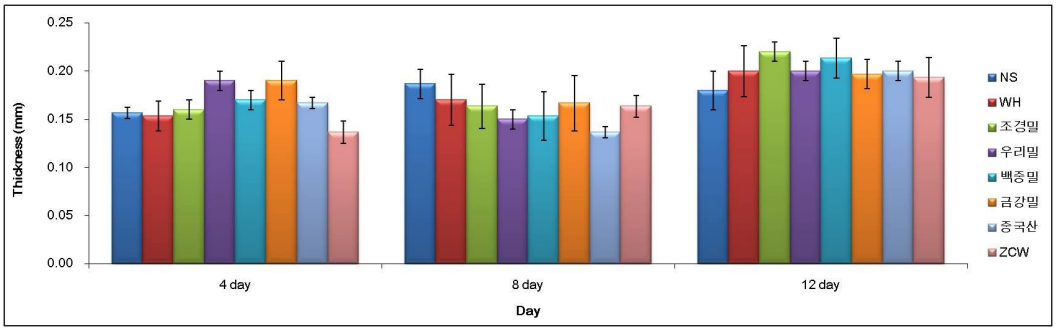



Fig. 4-5. The comparison of imported and domestic wheat on thickness.

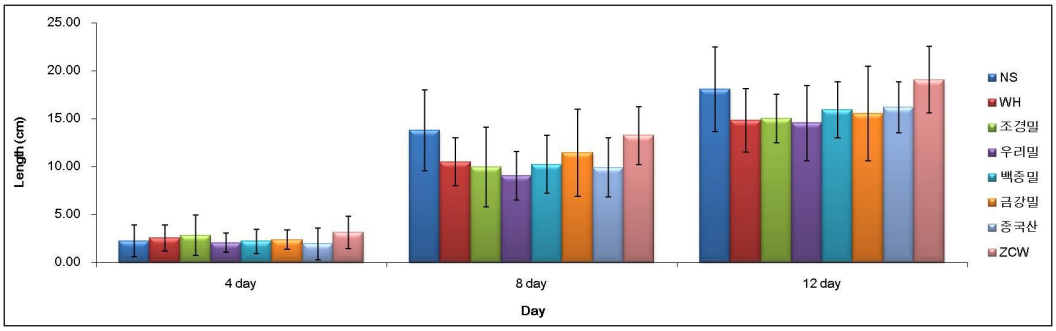



Fig. 4-6. The comparison of imported and domestic wheat on lengths.

# 2. 원두커피 부산물 첨가에 따른 밀싹의 성장과 엽록소 성분의 변화

## 2.1. 실험재료

본 연구에 사용된 국산밀(금강밀, Keumkang)과 토양은 경기도 성남시 판교 밀싹 농원에서 구입하여 재배하였으며, 원두커피 부산물은 광주광역시 봉선점에 위치한 S커피 전문점에서 원두커피 액을 추출하고 남은 부산물을 무료로 제공받아 사용하였다. 그 외 모판, 분무기, 믹서(mixer), vernier callipers (Guanglu, Guilin, China)는 재료상에서 구입하여 사용하였다.

## 2.2. 실험방법

### (1) 배양기 조건

배양기 조건으로는 국내의 밀 심는 시기는 상경(음력 10월 23일)에 맞추기 위해 광주광역시 기상청에 평균 온도와 습도 및 광주기를 확인한 후에 배양기에 상경 시기와 동일하게 설정하였다. 배양 및 파종 조건으로는 온도 23℃, 습도는 60%, 광주기는 밤 10시간 낮 14시간으로 맞춰 식물 배양기 조건을 설정하였으며, 물은 배양기 안에 자동 가습라인을 설치해서 1일 3회 10초 동안 각각의 밀에 동일한 양이 분사 될 수 있도록 조절하였다.

### (2) 토양 처리 방법 및 재배 조건

원두커피 부산물은 autoclave에 120℃로 20분 설정 한 다음 실험 하루 전에 멸균시켜 일반시중에 유통되는 토양에 원두커피 부산물을 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (w/w)씩 혼합하여 밀싹 재배용 배지로 사용하였다.

### (3) 밀싹 재배 방법 및 성장 비교

금강밀은 각 150 g씩 정량하여 수돗물에 4~5 회 세척한 후 1차 증류수에서 6시간 동안 불려 놓는다. 불린 밀은 물을 제거한 후 용기에 담아 2시간에 한 번씩 분무기로 수분을 공급한 후 마르지 않도록 48시간 동안 거즈로 덮어 놓으면 싹이 트기 시작한다. 모판에 각 군별로 토양를 2/3 정도 채운 후 그 위에 싹이 트인 밀을 골고루 뿌린 다음 밀이 보이지 않을 정도로 토사를 덮는다. 12일 동안 동일한 조건에서 성장한 밀은 난괴법을 이용해 가로 10 × 세로 10 ㎝의 구획을 정해서 각 군마다 모판에 심어진 밀싹을 뿌리까지 함께 잘랐다. 가로, 세로 구획에 맞춰 자른 밀싹은 전체의 개수를 각 군별로 정량화한 후, 각 군에서 무작위로 30개씩 뿌리째 채취한 후 vernier callipers를 이용해 생체 길이를 측정한 다음 총 중량, 지상부 길이와 중량, 지하부 중량을 측정하였다. 건조 후 중량과 길이를 측정 한 다음 믹서를 이용해 분쇄를 하였다.

### (4) 재배 조건에 따른 chlorophyll 함량 비교

재배된 밀싹을 각 군별로 생채중량 20 g을 자연 건조시킨 후 분쇄기를 이용해 분쇄한 후 acetone : distilled water = 9:1로 상온 추출하였다. 추출된 밀싹은 필터링 한 후  UV/Visible spectrophotometer로 파장 660 nm와 750 nm에서 흡광도를 측정하였다[197].

### (5) 토양 성분 분석

일반 토양의 구성요소는 super fine peat moss 70%, fine perlite 15%, dolomitic limestone, calcitic limestone, non-ionic wetting agent, calcium nitrate, triple super-phosphate, potassium sulfate, magnesium sulfate, trace elements 이다. 일반 시중에 유통되는 토양을 실험 전과 원두커피 부산물을 혼합하여 재배한 후에 토양을 채취하여 풍건(風乾)한 후 광주광역시 농업기술센터에 토양검정을 의뢰하여 분석하였다.

## 2.3 실험 결과 및 고찰

### (1) 원두커피 부산물 함량별 밀싹 성장 비교

원두커피 부산물을 이용해 밀싹의 성장률을 평가하기 위하여 일반 토양에 원두커피 부산물을 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (w/w)씩 혼합하여 12일 동안 재배하였다. 밀싹 재배 12일째 동일 조건에서 난괴법을 이용하여 Fig. 4-7과 같이 재배하여 측정하였으며 그 결과는 다음과 같다.

Fig. 4-7. Wheat sprout samples after growth experiment using randomized block design (RBD). From left to right, the content of coffee grounds is 0%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% (w/w), respectively. (a) the total length, (b) divided components.

1) 밀싹의 생체 전체 길이와 지상부 및 지하부 길이

밀싹 성장 전체 길이와 지상부 길이는 Fig. 4-8과 같이 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60%, 20%, 0%, 80%, 100% (w/w) 순으로 성장함을 알 수 있었다. 지하부 길이에서는 원두커피 부산물을 혼합한 토양 80%, 100%, 20%, 40%, 60%, 0% (w/w) 순으로 성장하였다. 일반 시중에 유통되는 토양에 원두커피 부산물을 함량별로 혼합한 후 밀싹의 성장을 비교해 봤을 때 일반 시중에 유통되는 토양보다 원두커피 부산물 40%와 60% (w/w)를 혼합해 재배한 군에서 밀싹의 성장률이 더 좋음을 알 수 있었다.

2) 밀싹의 건체 전체 길이와 지상부 및 지하부 길이

밀싹 성장 건체 전체 길이와 지상부 길이는 Fig. 4-9와 같이 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60%, 20%, 0%, 80%, 100% (w/w) 순으로 줄어듬을 알 수 있었고, 지하부 길이는 전체적으로 비슷한 경향을 보였다.

3) 밀싹의 생체 전체 무게와 지상부 및 지하부 무게

밀싹 성장 생체 전체 무게는 Fig. 4-10과 같이 원두커피 부산물을 혼합한 토양 60%, 40%, 100%, 20%, 0%, 100% (w/w) 순이었고, 지상부 무게는 40%, 60%, 100%, 20%, 0%, 100% (w/w) 순이었다. 지하부 무게는 100%, 60%, 20%, 40%, 0%, 80% (w/w) 순이었다. 원두커피 부산물 함량별 생체 무게를 비교해 봤을 때 원두커피 부산물 100% (w/w) 토양에서 수분을 흡수하지 못해 밀이 썩고 곰팡이가 생겨 밀이 자라지 못해 무게가 많이 나가는 것을 알 수가 있었다. 전체적으로 원두커피 부산물 40%와 60% (w/w) 혼합된 토양이 원두커피 부산물을 혼합하지 않은 0%에 비해 성장률이 우수한 효과를 나타냄을 확인할 수 있다.

#### 4) 밀싹의 건체 전체 무게와 지상부 및 지하부 무게

밀싹 건체의 전체 무게는 Fig. 4-11과 같이, 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60%, 20%, 0%, 80%, 100% (w/w) 순으로 측정되었고, 지상부 무게는 40%, 60%, 80%, 100%, 0%, 20% (w/w) 순으로 측정되었다. 지하부 무게는 원두커피 부산물 100%, 60%, 40%, 20%, 0%, 80% (w/w) 순으로 측정되었다. 밀싹의 건체 무게 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60% (w/w)에서 다른 군에 비에 무게가 더 증가함을 확인하였다.

밀에 대한 연구는 대부분 성분 분석이나 생리 활성 물질에 대한 연구로 국한되어 있으며[(198)(199)], 원두커피 부산물을 이용한 밀싹의 배양 실험은 아직 보고된 바 없다. 최근 미역 양식 부산물로 쪽파, 상추 등의 생장실험을 통해 초장(草長), 생체 무게, 건체 무게 등에 차이가 있음을 확인하여 친환경적 퇴비가 원예작물과 토양 개선에 효과가 있음을 보고하였다[(200)]. 본 연구의 결과에서 원두커피 부산물을 첨가한 경우 밀싹의 성장률 및 무게가 일반 토양에 비해 우수한 이유는 원두커피 부산물이 밀싹 배양의 영양분으로 작용한 것으로 판단된다.

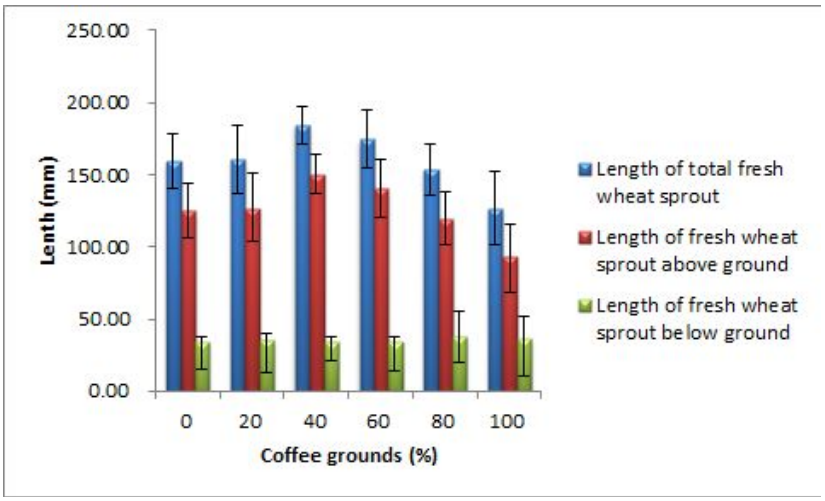



Fig. 4-8. Length variation of fresh wheat sprout. From left to right, the content of coffee grounds is 0%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% (w/w), respectively.

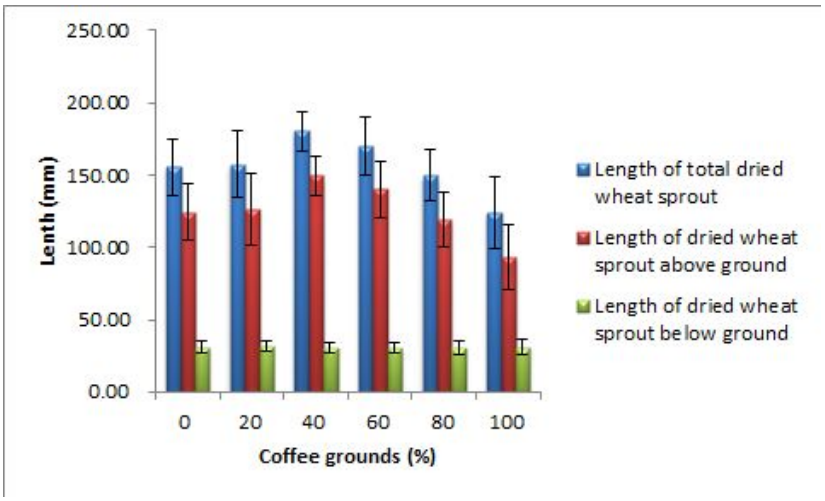



Fig. 4-9. Length variation of dried wheat sprout. From left to right, the content of coffee grounds is 0%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% (w/w), respectively.

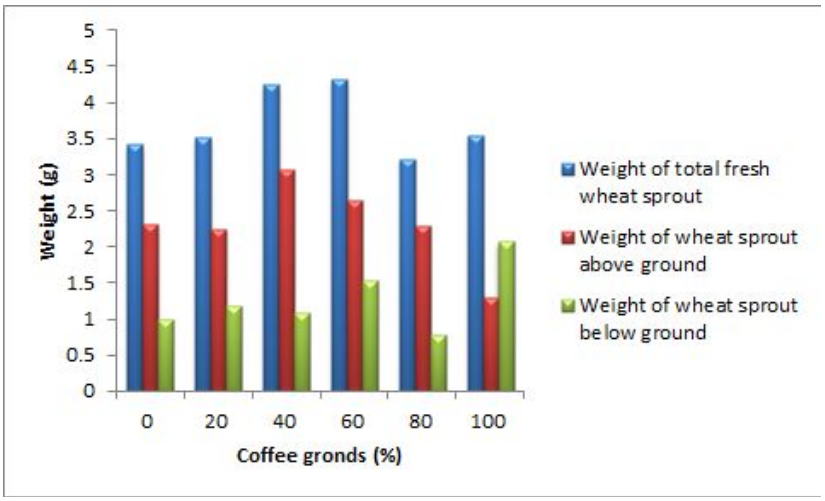



Fig. 4-10. Weight variation of fresh wheat sprout. From left to right, the content of coffee grounds is 0%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% (w/w), respectively.

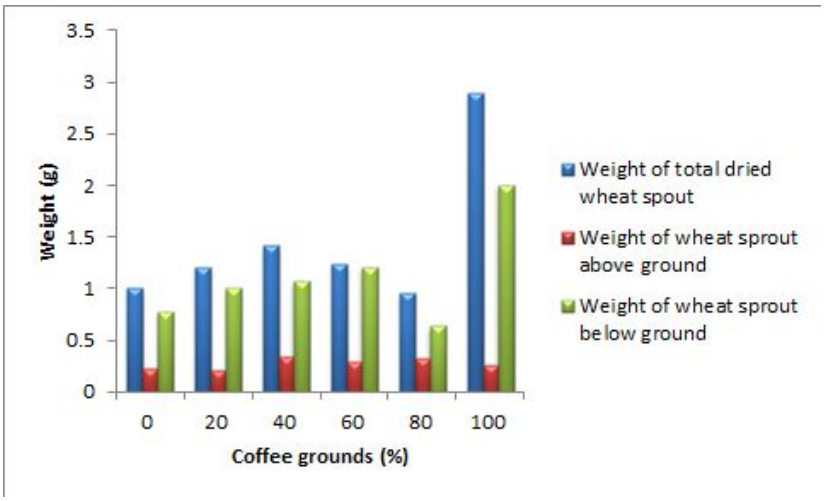



Fig. 4-11. Weight variation of dried wheat sprout. From left to right, the content of coffee grounds is 0%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% (w/w), respectively.

### (2) 재배 조건에 따른 chlorophyll 함량 비교

Chlorophyll은 상처 치료, 세균 생육정지 효과, 조혈작용, 간 기능 증진 작용, 탈취작용 등의 생리활성으로 건강보조식품에 널리 이용되고 있는 중요한 성분이다[201]. 각 군 별로 chlorophyll 함량을 흡광도 측정법으로 660 nm와 750 nm에서 측정한 후 그 결과를 Fig. 4-12에 나타내었다. 일반 토양에 원두커피 부산물 함량에 따라 밀싹의 chlorophyll 함량은 거의 동일하였으며, 원두커피 부산물 100% (w/w)군에서  다소 감소함을 확인할 수 있었다. 푸른 채소의 주색소인 chlorophyll은 탄수화물을 만들어 식물에 영양공급을 함으로써, 과일 및 채소의 신선도 및 식용증진에 중요한 요소이다[202]. 본 실험에서는 동일한 생체중량을 기준으로 chlorophyll 함량을 측정하여 각 실험군의 결과치가 유사함을 알 수 있었다. 그러나 원두커피 부산물 40, 60% 첨가군의 밀싹 성장이 다소 우수한 점을 감안한다면, 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60% (w/w)군에서 실질적인 chlorophyll 함량이 더 높을 것으로 판단된다. 한편 원두커피 부산물 100% (w/w)군에서는 토양조건이 안 맞아 뿌리가 썩고 성장 저해 및 갈변현상이 있어 chlorophyll 함량 측정 시 감소함을 알 수 있었다.

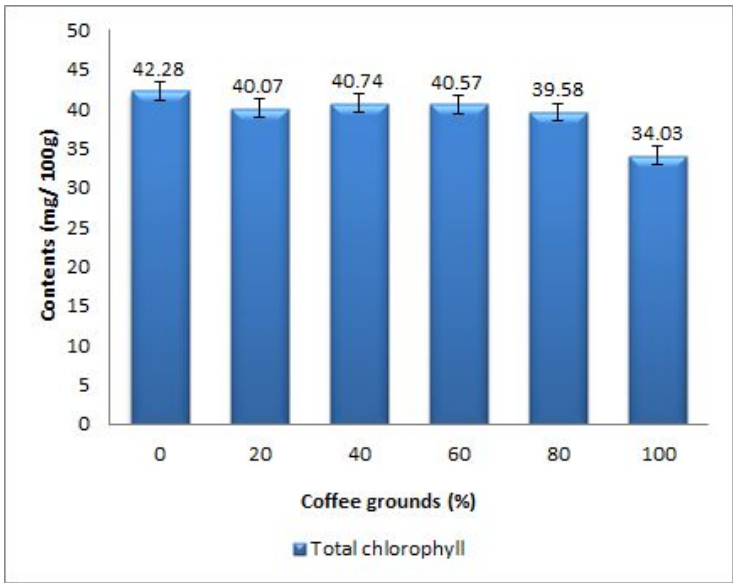



Fig. 4-12. Total chlorophyll contents with different amounts of coffee grounds.

### (3) 원두커피 부산물 함량에 따른 토양 특성변화

실험 전에 유통되는 토양과 원두커피 부산물을 함량별로 섞어 재배한 후에 토양을 분석한 결과는 Table 4-2와 같다. Table에 언급한 적정범위는 밀을 키우는데 필요한 농경지 조건을 광주광역시 농업기술센터에서 제공받아 비교하였다. 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60% (w/w)에서 유효 인산성분에서 밀을 키우기 좋은 농경지 조건 내에 포함됨을 확인하였다. 토지의 생산력을 높여서 식물이 잘 자라도록 뿌려 주는 영양물질을 비료라고 하는데, 이 비료의 3요소가 질소, 인, 칼륨이다. 광주광역시 농업기술센터의 분석에 의하면 pH를 비롯해 유기물, K, Ca, Mg, 전기전도도에서 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60% (w/w)에서 유통되는 토양과 유사한 성분값을 나타냄을 확인 할 수 있었다. 유통되는 토양의 성분을 보면 화학 비료를 다수 첨가한 것을 알 수 있는데, 이에 반해 원두커피 부산물은 친환경 물질로 밀싹의 재배 시에 화학 비료의 대체제로 사용이 가능할 것으로 사료된다.

원두커피는 1970년대 이후부터 해마다 그 수요량이 늘고 있으며, 전 세계 인구의 약 70~80%가 음용하는 대중적인 음료로 우리나라의 경우 원두커피 수입량이 2009년 기준 약 10만 576 톤으로 비용으로는 총 2억 7,628만 달러나 된다[203]. 2000년대 초반부터 다국적 외국 브랜드인 스타벅스, 커피빈 등이 한국 음료시장에 성공을 거두면서 커피에 대한 소비자의 인식이 크게 바뀌게 되었다[204]. 커피는 전 세계적으로 가장 많이 생산되고 있는 작물 중 하나로 원두커피 부산물을 이용한 실험은 다양한 방법들이 있다. 이 중 커피 부산물을 폐수 중의 중금속처리에 응용하는 연구[205], 폐수 내 휘발성 유기화합물 중 trichloroethylene(TCE) 제거에 응용에 관한 연구[206], 커피박 추출물이 식품에 천연항산화제로써 사용 가능성[207], 사료 내 천연 항산화 소재로서의 이용이 보고되었다[208]. 이밖에 커피박에 의한 구름버섯 균사체의 생장 촉진 등이 연구되고 있다[209]. 이러한 재활용의 가치가 있는 원두커피 부산물은 그대로 종량제 봉투에 담겨져 있는 상황으로 별도의 대책이 필요하다 [210]. 따라서 본 연구에서는 일반적으로 폐기처분되는 원두커피 부산물을 이

용하여 밀싹 재배 시 성장률과 영양성분의 변화를 관찰함으로써 원두커피 부산물이 밀싹 등의 식물재배에 유용한 자원으로서의 활용가치를 확인하고자 하였다.

Table 4-2. Soil media composition for wheat sprout cultivation used in this study

| coffee ground residue (w/w) | pH (1:5) | organics (g/kg) | phosphate (mg/kg) | exchangable cations (cmol+/kg) | | | conductivity (ds/m) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | K | Ca | Mg | |
| 0% | 6.0 | 61 | 90 | 1.60 | 27.70 | 12.7 | 3.2 |
| 20% | 5.8 | 61 | 543 | 6.40 | 13.20 | 13.0 | 3.7 |
| 40% | 5.9 | 62 | 171 | 2.36 | 24.90 | 13.5 | 1.1 |
| 60% | 6.0 | 62 | 183 | 2.22 | 17.50 | 10.7 | 1.8 |
| 80% | 6.0 | 61 | 288 | 3.77 | 13.80 | 10.5 | 2.2 |
| 100% | 5.9 | 62 | 1087 | 9.50 | 3.50 | 10.1 | 5.0 |
| conventional soil media | 6.0 | 62 | 126 | 2.09 | 21.00 | 12.1 | 1.6 |
| Appropriate range | 6.5～7.0 | 20～30 | 150～250 | 0.45 ～0.55 | 6.0 ～7.0 | 2.0 ～2.5 | 0.0～2.0 |

# 제 5 장 RAW 246.7 대식세포에서의 밀싹 추출물의 항염증 효과

## 1. 실험재료

식물배양 CHAMBER(다솔과학), 모판, 토사, 믹서(필립스), TLC(Merk), TLC 245 nm(Merk), Capillary Tube(LKlab), Silica gel 200～340 mesh(Merk), Funnel(vissal), Separatory funnel(PYREX), 5 L Erlenmeyer Flask Narrow-neck(동성과학), 500 mL Erlenmeyer Flask Narrow-neck(동성과학), 2000 mL Evaporating Flask(PYREX), 1000 mL Evaporating Flask(PYREX), 500 mL Evaporating Flask(PYREX), 2000 mL Chromatography Ball Column(PYREX), Mini TLC Developing Chamber(LKlab), 1000 mL Mess cylinder(SUPERIOR), Circulator RW-0525G(JSR), Centrifuge for vacuum Modulspin31(Hanil Science Industrial Co.,Ltd.), Cold Trap Bath CTB-10(JEIO TECH), Evaporator R-II(BUCHI), Vacuum pump(KNF LAB), LPS(sigma-aldrich), Griess reagent(sigma - aldrich), Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide(sigma-aldrich), TRI-zol(Geneall), MMl-V(invitrogen), Anti-iNOS antibody(Upstate), anti-β actin antibody(santa cruz), PVDF membranes (Pall), skim milk(BD), chemiluminescence reagents (Amersham).

# 2. 실험방법

## 2.1 시료추출

시료추출은 Fig. 5-1과 같이 자연 건조된 밀싹을 믹서에서 분쇄한 후 wheat sprout dried powder 200 g에 80% Ethanol 5L(D.W. 20%)을 넣은 후 shaking incubator에서 150 rpm으로 3일 동안 추출하였다. 추출물을 필터링 한 후 evaporator lotery를 이용해 30℃에서 진공 농축하였다. Ethyl acetate : water를 1:1로 넣어 진공을 시키지 않고 농축액을 용해시킨 후 층 분리를 위해 분별 깔때기에 추출물을 넣은 후 Ethyl acetate와 water로 분리하였다. Ethyl acetate 층을 다시 농축 한 후 Ethyl acetate 층을 n-Butanol과 water를 1:1로 넣어 진공을 시키지 않고 다시 층 분리를 한 다음 분별 깔때기를 이용해 hydrophobic 층과 hydrophilic 층으로 분리를 하였다. n-Butano 층을 Fig. 5-2와 같이 TLC로 찍어 전개용매(solvent) 비율(hexane : ethyl acetate = 8:2, 7:3, 5:5, 3:7, 0:10 → methanol 100%, methanol 50% [ethanol 50%와 water 혼합액], water)을 확인한다. n-Butanol 층과 water 층을 각각 농축하여 normal-butanol의 hydrophobic 층을 open column으로 분획물 8개를 분리하였다. 분리된 분획물은 TLC를 이용해 Fig. 5-3과 같이 유용성분이 예상되는 fraction 1, fraction 5, fraction 8을 본 실험에 사용하였다.

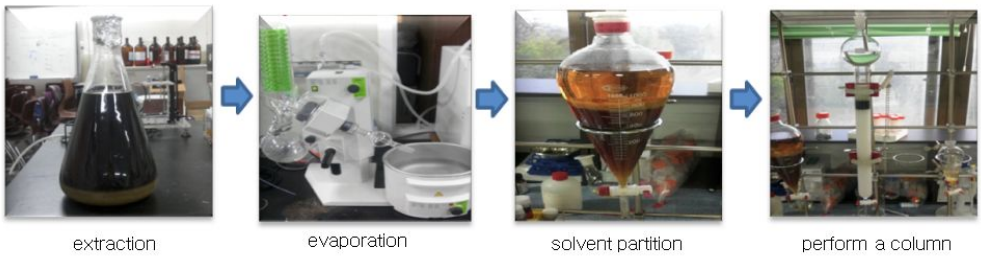



Fig. 5-1. Wheat germ extract process.

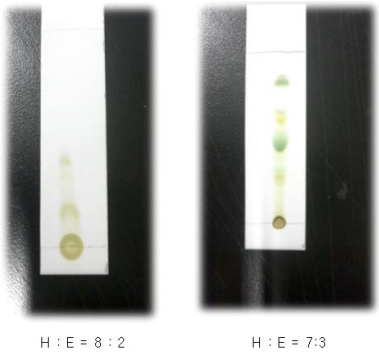



Fig. 5-2. Open column with Hexane and Ethylacetate.

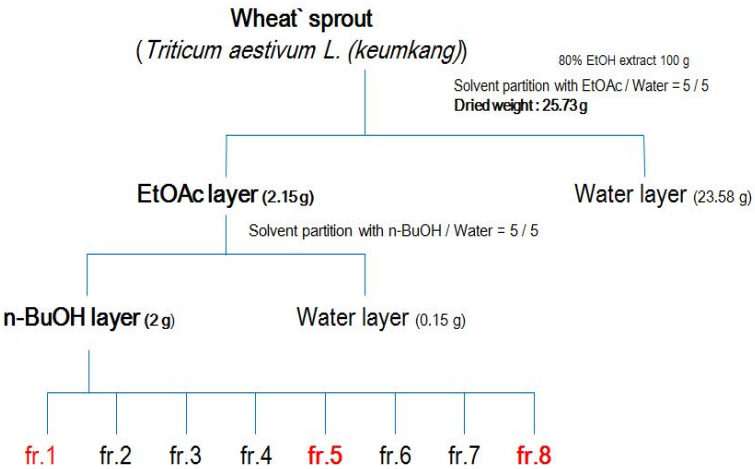



Fig. 5-3. Isolation diagram of the fraction 5 and fraction 8 from ethanolic extracts of wheat sprout.

## 2.2 세포배양

실험에는 RAW 264.7 macrophage 세포주를 사용하였으며, 세포주는 DMEM 배지에 10% FBS와 1% streptomycin/penicillin을 첨가하여 37℃에서 5% CO2 조건 하에서 배양하였다.

## 2.3 MTT assay

RAW 264.7 대식세포를 96-well plate에 각각 1*104 cells/well을 접종한 후 2시간 동안 배양 하였다. 밀싹 추출물을 농도별(1, 10, 50, 100 ㎍/mL)로 각각 처리한 다음 1시간 후 LPS 20 ng을 18시간 동안 처리하여 배양하였다. 배양이 끝난 세포에 MTT stock 용액(5 mg/mL)을 배양배지 부피에 최종적으로 1/10 되게 첨가하여 37℃에서 4시간 동안 반응 시켰다. 반응 후 배양 상등액을 제거한 다음 각각의 well에 DMSO 200 ㎕를 첨가하여 세포에서 생성된 MTT-formazan 결정체를 용해시킨 후 ELISA reader로 570 nm에서 흡광도를 측정 하였다.

## 2.4 NO assay

RAW 264.7 대식 세포를 1*104 cells/well을 96-well plate에 접종하고 24시간 동안 배양하였다. 밀싹 추출물을 농도별로 (1, 10, 50, 100 ㎍)씩 각각 처리하고 1시간 후 LPS 20 ng을 18시간 동안 처리하여 배양하였다. 배양이 끝난 세포배양 상등액 50 ㎕을 취하여 96-well plate로 옮긴 후 Griess reagent (1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid and 0.1% N-(1-Naphthy1) ethylene-diamine dihydrochloride in distilled water) 50 ㎕를 혼합하여 10 min 동안 반응시킨 후 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 2.5 RNA 분리 및 RT - PCR

RAW 264.7 대식 세포를 60mm dish에 24시간 동안 배양하고 밀싹 추출물을 1, 10, 50, 100 ㎍ 씩 각각 처리하고 1시간 후 LPS 20 ng을 18시간 동안 처리하여 배양하였다. 각각 세포의 total RNA를 추출하기 위해 TRI-zol 1 mL을 첨가하여 세포를 용해시키고 실온에서 5분 동안 incubation 후 chloroform 200㎕를 첨가하여 희석한 다음 13,200 rpm에서 15분 동안 원심분리 하였다. 투명한 상층액을 분리하여 새로운 tube에 취하고 동량의 isopropyl alcohol을 첨가한 후 13,200 rpm에서 10 min 동안 원심 분리하여 RNA를 침전시켰다. 70% EtOH로 washing 후 상온에서 건조시켜 0.1% DEPC에 용해 시켰다. 추출된 RNA를 spectrophotometer를 이용하여 농도 및 순도를 확인한 후 전체 RNA의 5 ㎍을 M-MLV RT 역전사 효소를 이용하여 역전사를 하였다. 반응시켜 나온 25 ng의 RNA에 해당하는 cDNA를 주형으로 하고 iNOS primer (5′-CTG CAG CAC TTG GAT CAG GAA CCT G-3′, 5′-GGG AGT AGC CTG TGT GCA CCT GGA A-3′), β-actin primer(5′-TGG AAT CCT GTG GCA TCC ATG AAA C-3′, 5′-TAA AAC GCA GCT CAG TAA CAG TCC G-3′)을 이용하여 PCR(polymerase chain reaction) 방법으로 증폭시켰다.

## 2.6 Western Blot

RAW 264.7 대식세포를 1*106 을 100mm dish에 24시간 동안 배양하고 밀싹 추출물 농도별로 (1, 10, 50, 100 ㎍/씩 각각 처리하고 1시간 후 LPS 20 ng을 18시간 동안 처리하여 배양하였다. 배양한 세포를 PBS로 washing 하여 microtube에 옮기고 원심분리 하였다. 세포 침전물에 RIPA buffer를 첨가하여 세포를 용해한 후 4℃ 13,200 rpm으로 20분 동안 원심분리 한 후 상층액을 취하여 단백질을 분리하였다. 분리한 단백질은 BCA 방법에 따라 정량한 후 10% SDS-polyacrylamide gel을 사용하여 전기영동 한 다음 PVDF membrane에 transfer 하였다. membrane을 5% skim milk solution에 1시간 동안 blocking

한 후 1차 antibody iNOS로 4℃에서 12시간 동안 반응 시키고, washing 후 2차 antibody로 상온에서 1시간 동안 반응 시켰다. chemiluminescence reagents을 이용하여 x-ray film으로 현상하였다. β-actin은 각각의 시료에 동량의 단백질이 들어있는지 확인하기 위한 대조군으로 사용하였다.

# 3. 실험 결과 및 고찰

밀싹 추출물의 hydrophobic 층을 이용하여 RAW 246.7 대식세포에서 MTT assay와 NO assay 방법으로 total 층, EtOAc 층, n-BuOH 층 그리고 좀 더 세분화하여 fraction 1, fraction 5, fraction 8에 대해 항염증 대해 실험한 결과는 다음과 같다.

## 3.1 MTT assay와 NO(Nitric oxide) assay

첫째, 밀싹 추출물의 total 층을 이용해 세포 생존률과 세포의 염증 반응을 알아보기 위해 실험한 결과는 Fig. 5-4와 같다. RAW 246.7 대식세포에서 아무것도 처리하지 않고 24시간 동안 배양했을 때의 개체 수를 100% 컨트롤로 설정했다. LPS의 세포 독성을 확인하기 위하여  RAW 246.7 대식세포에 LPS 20 ㎍을 처리했을 때 세포의 개체 수는 컨트롤과 같은 수치를 보였다. 본 연구에 실험군 밀싹 추출물에 대한 세포 독성을 확인하기 위해 RAW 246.7 대식세포에 LPS 20 ㎍ 밀싹 추출물 1, 10, 50, 100 ㎍을 각각 처리하였다. 그 결과 밀싹 추출물 50 ㎍을 처리하였을 때 약간의 세포 개체 수가 줄어듬을 확인 할 수 있었지만 동일량의 밀싹 추출물 50 ㎍에서 염증이 저해됨을 확인 할 수 있었다.

둘째, 밀싹 추출물에 EtOAc을 사용해 hydrophobic 층과 hydrophilic 층으로 분리하여 실험한 다음 hydrophobic 층에 대한 세포 독성과 염증반응에 결과는 Fig. 5-5와 같다.

RAW 246.7 대식세포에 LPS 20 ㎍ 밀싹 추출물 1, 10, 50. 100 ㎍을 각각 처리 한 결과 밀싹 추출물 hydrophobic 층에서 세포 생존률 밀싹 추출물 1, 10, 50 ㎍까지 거의 독성이 없음을 확인하였고 100 ㎍에서 세포 생존률이 40%까지 줄어듦을 확인하였다.

세포 염증 반응에서는 밀싹 추출물 1, 10 ㎍에서는 염증이 확인 되었으며, 밀싹 추출물 50 ㎍에서는 control과 유사하게 염증이 저해됨을 확인하였다.

셋째, 밀싹 추출물에 n-BuOH을 사용해 hydrophobic 층과 hydrophilic 층으로

분리하여 실험한 다음 hydrophobic 층에 대한 세포 독성과 염증반응에 결과는 Fig. 5-6과 같다. 밀싹 추출물을 1, 10, 50 ㎍에서 약간에 세포 개체수가 줄어들었으며 밀싹 추출물 100 ㎍을 처리하였을 때 20%에 생존률을 보여주었다. 염증 반응에서는 밀싹 추출물을 1, 10 ㎍에서 염증이 저해 되지 않았으며, 밀싹 추출물 50 ㎍에서 control과 유사하게 염증이 저해됨을 확인하였다.

넷째 밀싹 추출물에 n-BuOH로 hydrophobic 층과 hydrophilic 층으로 분리한 후 hydrophobic 층을 open column을 통해 8개 fraction으로 나누었다. 유용성분이 있을 거라 예상되는 fr. 1, fr. 5, fr. 8.을 세포 독성과 염증반응에 대한 결과는 다음과 같다. 밀싹 추출물을 1, 5, 10, 50, 100, 200, 250, 500 ㎍에서 fraction 1에 결과는 Fig. 5-7과 같이 500 ㎍에서 약간에 세포 사멸이 보였으나 500 ㎍의 염증은 저해됨을 확인할 수 있었다. Fig. 5-8과 같이 fraction 5에 결과도 역시 500 ㎍에서 약간에 세포 사멸이 보였으나 500 ㎍의 염증은 저해됨을 확인할 수 있었다. 그러나 fraction 8에 결과는 Fig. 5-9와 같이 농도가 증가함에 따라 세포 생존률이 낮았으며, 염증도 증가함을 알 수가 있었다.

활성 질소종(reactive nitrogen species)의 하나이며, 최근 염증 반응의 중요한 작용인자로 알려진 nitric oxide(NO)(JUNG2013)[211] 생성 저해에 대한 밀싹 추출물 효과를 알아보기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다. 밀싹 추출물을 농도별로 준비한 다음 Basu S.와 Hazra B.[212]의 방법에 준하여 실험을 수행하였으며, 그 결과 밀싹 추출물의 니트릭 옥사이드 라디칼 소거 활성은 농도에 비례하면서 증가하는 것으로 확인되었다. 대식세포에서는 LPS와 같은 외부 자극 등에 의해 염증반응이 일어나면 NO, PGs, 염증성 cytokine과 같은 다양한 병리적인 반응이 유도된다[213].

NO synthase(NOS)에 의해 L-arginine으로부터 생성되며 NOS는 constitutive NOS와 inducible NOS(iNOS)로 나누어진다. 특히 iNOS와 외부자극이나 proinflammatory cytokine 등에 의해 자극 받게 되면 hepatocytes, smooth muscle cells, bone marrow cells, monocytes, macrophages 등 다양한 세포에서 발현되어 다량의 NO를 생산한다고 보고되어 있다[214].

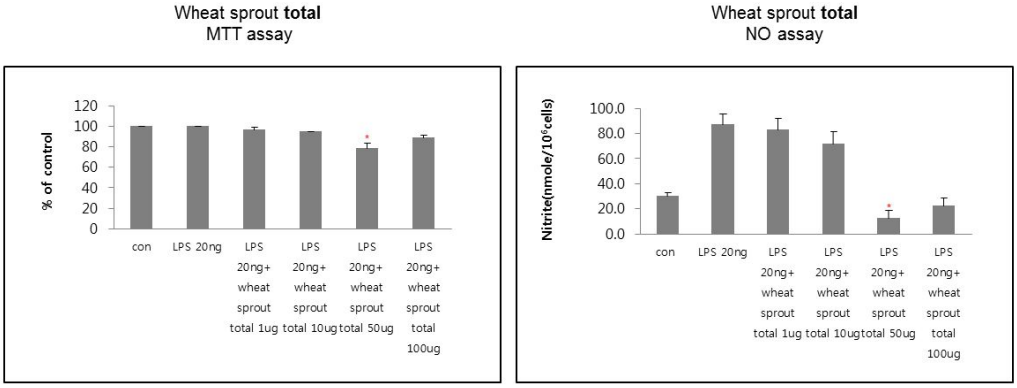



Fig. 5-4. MTT and NO assay of crude extract from wheat sprout.

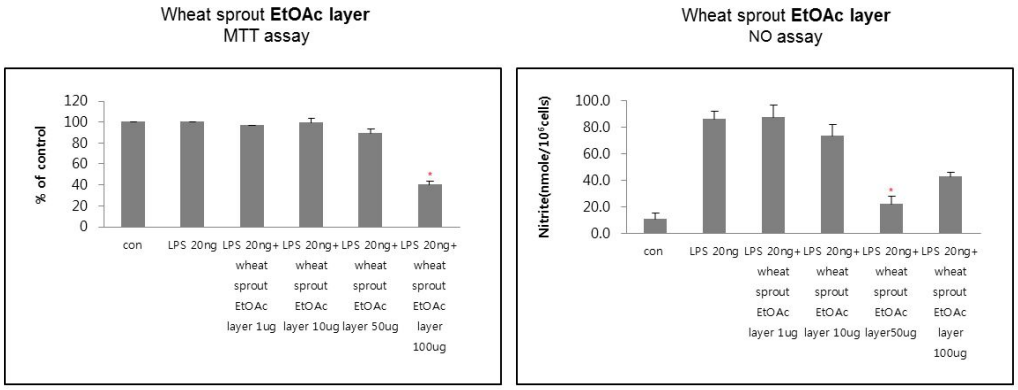



Fig. 5-5. MTT and NO assay of EtOAc extract from wheat sprout.

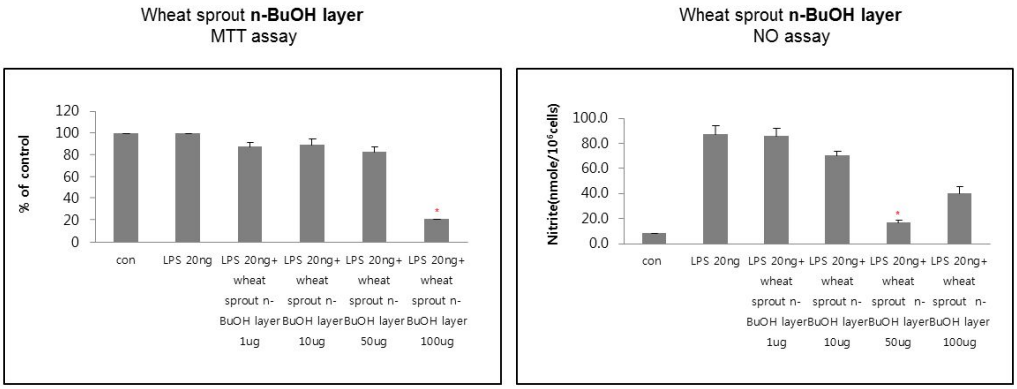



Fig. 5-6. MTT and NO assay of n-BuOH extract from wheat sprout.

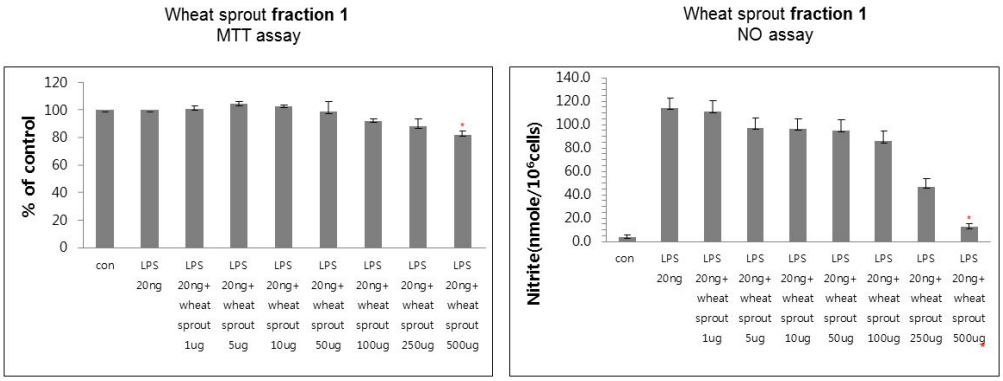



Fig. 5-7. MTT and NO assay of Open column fraction No. 1 from wheat sprout.

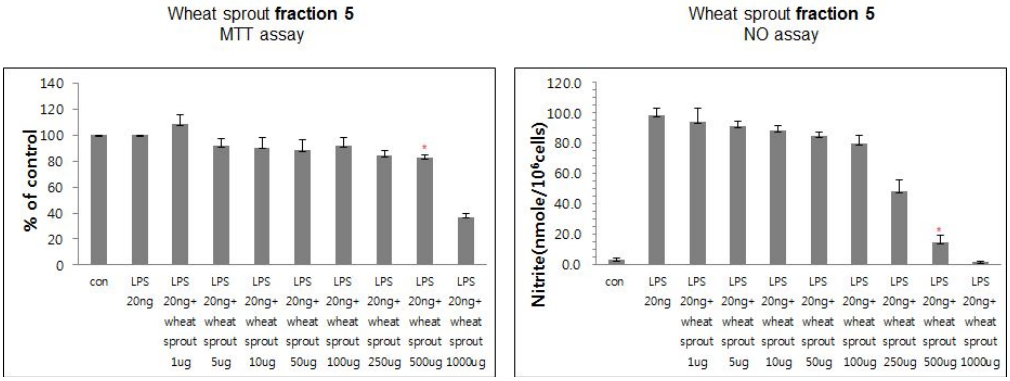



Fig. 5-8. MTT and NO assay of Open column fraction No. 5 from wheat sprout.

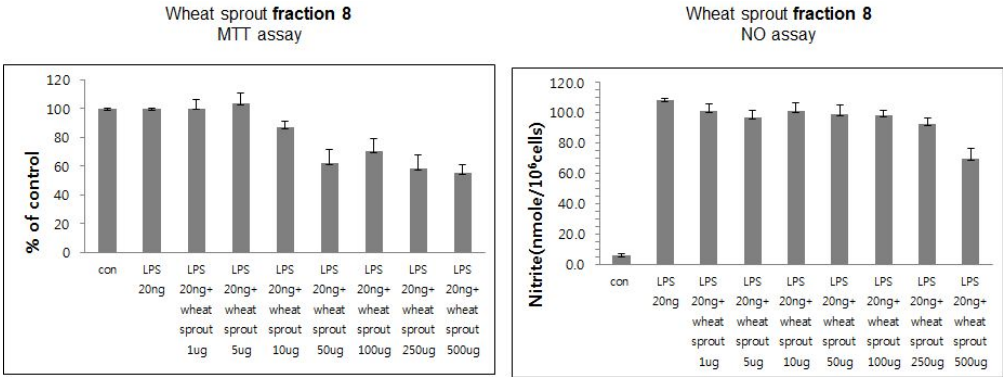



Fig. 5-9. MTT and NO assay of Open column fraction No. 8 from wheat sprout.

## 3.2 RT-PCR, Western Blot

### iNOS 발현억제 효능

iNOS(Inducible nitric oxide synthase)는 NO를 생성하는 효소로서 염증과 관련되어 있는 단백질이다. RAW 246.7 대식세포에서 밀싹 추출물이 iNOS의 발현에 미치는 영향을 RT-PCR과 Western Blot으로 측정하였다. RT-PCR로 iNOS mRNA의 양을 측정한 결과 Fig. 5-10과 같이 LPS에 의해서 iNOS의 발현이 증가되었고, 밀싹 추출물 및 EtOAc 층, BuOH 층 그리고 fraction 1과 fraction 5에서 모두 iNOS band의 density가 감소되어 iNOS mRNA 량이 감소되었음을 확인하였다. 또한 Western Blot 법을 이용하여 iNOS 단백질량을 측정한 결과 RAW 246.7 대식세포에서 LPS에 의해서 iNOS band가 density가 증가되었고, 밀싹 추출물 및  EtOAc 층, BuOH층 그리고 fraction 1과 fraction 5에서 모두 iNOS band의 density가 감소되어 iNOS 단백질 량이 감소되었음을 확인하였다.

NOS(Nitric oxide synthase)는 NO 생성에 관여하는 효소로 세포의 종류에 따라 신경성 NOS(nNOS), 내피성 NOS(eNOS), 유도성NOS(iNOS)로 구분되며 그 중 iNOS는 NO의 과발현에 영향을 미치며 다양한 세포에서 유도되어 병리생태학적 관점에서 중요한 역할을 한다[215]. 따라서 본 실험에서 RAW 246.7 대식세포에서 LPS에 의해서 iNOS의 발현이 증가되고 밀싹 추출물 및  EtOAc 층, BuOH 층 그리고 fraction 1과 5에 의해서 LPS에 의해서 증가된 iNOS의 발현증가가 억제되어 밀싹 추출물 및 EtOAc 층, BuOH 층 및 fraction 1과 fraction 5에 iNOS 발현증가를 억제 하는 기능이 있으며, 이러한 작용은 이들의 NO 생성 억제에 중요한 작용을 한 것으로 생각된다. RAW 246.7 대식세포에서 NO는 면역기능에 중요한 작용을 하기 때문에 밀싹 추출물 및 EtOAc 층, BuOH 층 및 fraction 1과 fraction 5의 NO 생성억제 기능은 면역반응을 억제하는데 관여 할 수 있을 것으로 사료된다.

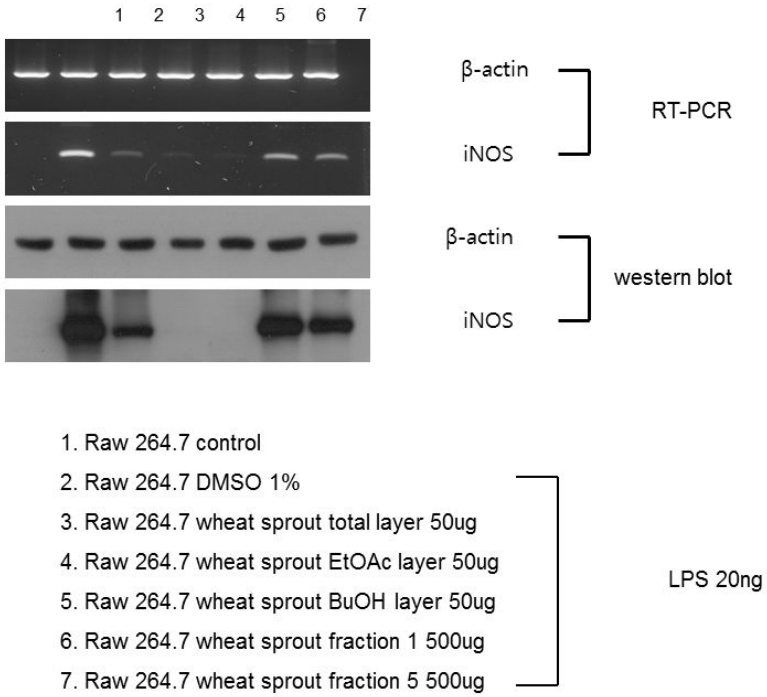



Fig. 5-10. Inducible nitric oxide synthase assay of wheat sprout fractions.

# 제 6 장 밀싹 추출의 C57BL/6 Mouse에 대한 발모 효과

## 1. 실험재료

### 1.1 실험시료

본 연구에 사용된 국산밀(금강밀, Keumkang)과 토양은 경기도 성남시 판교 밀싹농원에서 구입하였다. Minoxidil 3%(현대약품), 모판, 분무기, 믹서, 에탄올, 붓 등은 재료상에서 구입하여 사용하였다.

### 1.2 실험동물

생후 6주된 C57BL/6 mouse(female)를 (주)다물사이언스(Daejeon, korea)로부터 분양 받아 조선대학교 의과대학 동물 실험실에서 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험기간 중 실험동물은 격리용 mouse cage에 사육하였고 사육실 환경조건은 실내온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 조명주기는 12시간씩 밤과 낮을 유지하였으며, 실험 기간 동안 물과 사료(삼양사료)는 자유로이 공급하였다. 실험은 마우스 6마리씩 5개 군으로 나누어 비교 하였으며, 총 30마리를 실험에 사용하였다.

# 2. 실험방법

## 2.1 밀싹 재배 및 추출

금강밀은 각각 200 g씩 정량하여 수돗물에 4~5 회 세척한 후 1차 증류수에서 6시간 동안 불려 놓았다. 불린 밀은 물을 제거한 후 용기에 담에 2시간에 한 번씩 분무기로 수분을 공급한 후 마르지 않게 48시간 동안 거즈로 덮어 싹을 틔운 후 모판에 심고 12일 동안 동일 조건에서 재배하여 채취한 후 건조하였다. 건조된 밀싹은 분쇄하여 80% 에탄올에 3일간 상온에서 추출한 후 Fig. 6-1과 같이 hydrophobic 층과 hydrophilic 층으로 분리하였다. 이 중 hydrophobic 층을 실리카 open column을 이용해 총 8개의 fraction으로 분리한 다음 TLC를 이용해 유용물질이 예상되는 5번째 분획(fr. 5)과 8번째 분획(fr. 8)을 본 실험에 사용하였다.

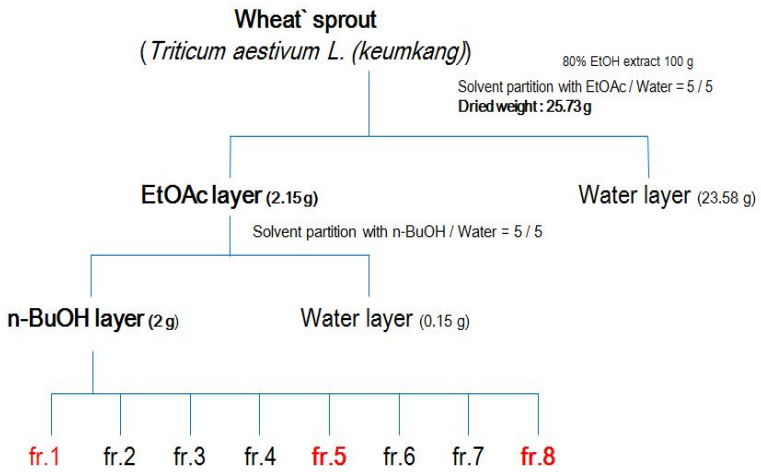



Fig. 6-1. Isolation diagram of the fraction 5 and fraction 8 from ethanolic extracts of wheat sprout.

## 2.2 실험동물 처치

Mouse를 1주간 적응 시킨 후 ether로 마취시킨 후 mouse의 등을 animal clipper와 남성용 전기면도기를 이용해 제모 하였다. 시료도포는 제모 당일로부터 28일간 제모부위에 대해 1일 1회씩 월요일부터 토요일까지 오후 3시에 경피도포 하였으며, 도포양은 약 0.2 mL 정도 붓을 이용하여 도포하였다. 본 실험에 사용된 밀싹 추출물의 제형은 Table 6-1과 같이 제조하였다.

## 2.3 육안적 관찰(외형효과)

실험 시작 후 털이 자란 상태의 외형적 분석은 육안적 관찰에 의하여 수행하였다. 육안적 관찰 방법은 실험 시작일로부터 7, 14, 21, 28 일 후 ether에 의해 흡입 마취를 시킨 후 사진 촬영을 하였다. 실험군과 대조군의 발모 효과는 사진상으로 시료 도포 부위에 털이 어느 정도 자랐는지 육안으로 평가하였다. 털의 성장 효과에 따라 0~19% (1점), 20~39% (2점), 40~59% (3점), 60~79% (4점), 80~100% (5점)으로 나누어 평가하였다[215]. 평가원은 조선대학교 생명화학공학과 연구2원 10명에 의해 평가하였으며, 각 평가원들의 점수를 합산하여 scoring 하였다.

## 2.4 육안적 관찰(경피 내측 효과)

실험 시작 4주(28일) 후 육안적 관찰이 끝난 다음 경추 도살 한 마우스의 경피 내측 색을 육안으로 관찰하였다. 경피 내측 색의 변화로 모발 성장주기를 파악 할 수가 있다.

Table 6-1. Base formulation for the preparation of wheat sprout sample solution

| 원료명 | INCI name | A;분량 (g) | B;분량 (g) | C;분량 (g) | D;분량 (g) | E;분량 (g) | F;분량 (g) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Butylene glycol | Butylene glycol | 5.000 | 5.000 | 5.000 | 5.000 | 5.000 | 5.000 |
| Methylparaben | Methylparaben | 0.200 | 0.200 | 0.200 | 0.200 | 0.200 | 0.200 |
| Alpicare NS | PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Trideceth-9, Water | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| Salicylic acid | Salicylic acid | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.050 |
| Panthenol | Panthenol | 0.300 | 0.300 | 0.300 | 0.300 | 0.300 | 0.300 |
| Menthol | Menthol | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.050 | 0.050 |
| Phenoxyethanol | Phenoxyethanol | 0.300 | 0.300 | 0.300 | 0.300 | 0.300 | 0.300 |
| Ethanol | Alcohol | 12.000 | 12.000 | 12.000 | 12.000 | 12.000 | 12.000 |
| Wheat sprout extract | | 0.000 | 2.000 | 4.000 | 8.000 | 16.000 | 32.000 |
| Water | Water | 81.100 | 79.100 | 77.100 | 73.100 | 65.100 | 49.100 |

## 2.5 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin)

실험 4주째 경피 적출한 피부조직들은 10% 중성 포르말린에 3시간 동안 고정한 다음 흐르는 물에 수세하였다. 피부조직은 4 mm 간격으로 자르고 tissue capsule에 넣어 50% 알코올, 70% 알코올, 80% 알코올, 95% 알코올, 100% 알코올로 각각 1시간 처리하여 탈수하였다. 그리고 xylen을 4회에 각각 1시간씩 담가둔 후 파라핀으로 치환하였다. 피부조직은 파라핀에 포매한 후 포매 된 조직은 4 ㎛ 두께로 절편을 만들어 hematoxyline & eosin 염색을 실시하여 관찰하였다.

## 2.6 조직학적 분석(Toluidin Blue)

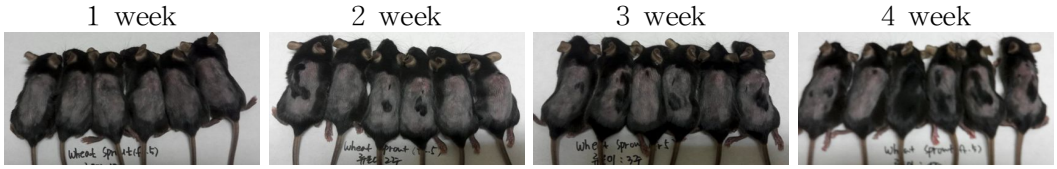
실험 4주째 경피 적출한 피부조직들은 10%중성 포르말린에 3시간동안 고정한 다음 흐르는 물에 수세하였다. 피부조직은 4 mm 간격으로 자르고 tissue capsule에 넣어 50% 알코올, 70% 알코올, 80% 알코올, 95% 알코올, 100% 알코올로 각각 1시간 처리하여 탈수하였다. 그리고 xylen을 4회에 각각 1시간씩 담가둔 후 파라핀으로 치환하였다. 피부조직은 파라핀에 포매한 후 포매 된 조직은 4 ㎛ 두께로 절편을 만들어 toluidine blue 염색을 실시하여 관찰하였다.

# 3. 실험 결과 및 고찰

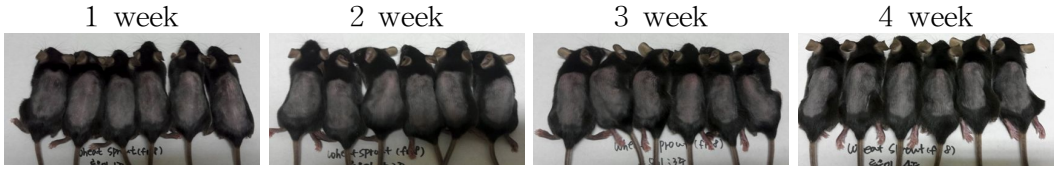
밀싹 추출물이 모발 성장에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 밀싹 에탄올 추출물의 hydrophobic 층을 분리하여 4주(28일)동안 발모 효과를 알아보았다. 실험에서 mouse의 육안적 관찰 및 조직학적으로 분석한 결과는 다음과 같다.

## 3.1 육안적 관찰(외형 효과)

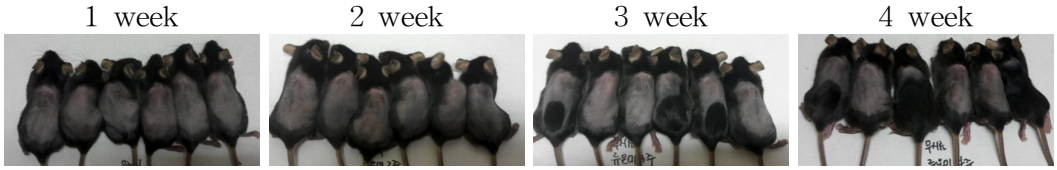
밀싹 추출물이 모발성장에 어떤 영향을 미치는 4주(28일)동안 수행한 실험에서 mouse의 사진과 육안적 관찰에 의한 외형효과를 Fig. 6-2, Fig. 6-3과 Table 6-2에 나타내었다. 실험시작 6~10 일이 경과한 후 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군과 양성대조군인 미녹시딜군 3%군에서 경피 색깔이 회색에서 검푸른 색으로 변하기 시작하여 모가 자라는 것이 관찰되었고 대조군의 경피 색깔은 회색을 띄고 있었다. 3주째 접어들면서 실험군인 wheat sprout (fr. 8)군을 제외한 모든 군에서 모 성장을 확인 할 수가 있었고, 4주째에 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군에서 전체 마우스 등이 아주 진한 검푸른색을 확인할 수 있었다. 그리고 양성대조군인 미녹시딜군은 모성장이 거의 진행됨을 알 수 있었으며, 대조군인 무처리군, 제형군에서는 거의 비슷한 양상에 모 성장을 확인하였다. 반면 wheat sprout (fr. 8)군에서는 3주차와 거의 차이가 없었음을 확인하였다. 이로써, 외형적인 관찰에서는 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군이 양성대조군인 미녹시딜 3%에는 못 미치지만, wheat sprout (fr. 5)군에 피부색이 전체적으로 검정색에 가까움을 확인함으로써 성장기로 전이가 시작됨을 예상할 수가 있었다.



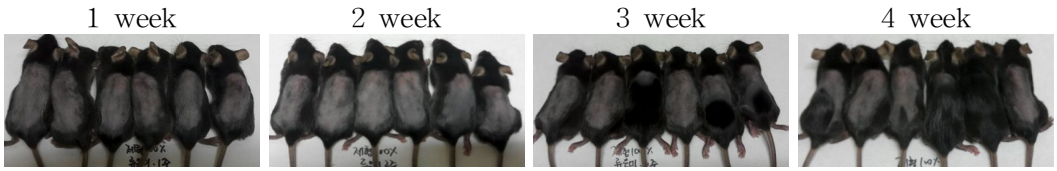

(a) wheat sprout (fr. 5)



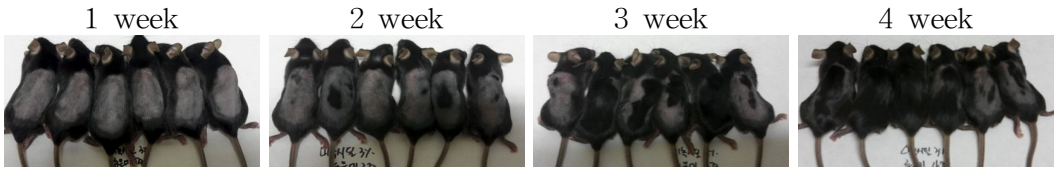

(b) wheat sprout (fr. 8)




(c) no treatment




(d) base formular




(e) minoxidil 3%

Fig. 6-2. Time course of hair-promoting effect of (a) wheat sprout extract (fr. 5), (b) wheat sprout extract (fr. 8), (c) no treatment, (d) base formular, and (e) minoxidil 3% solution.

Table 6-2. Hair regrowth scores of wheat sprout fractions

| | | wheat sprout (fr. 5) | wheat sprout (fr. 8) | No treatment | Minoxidil 3% | Base formular |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Researcher A | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher B | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 2 | 3 | 5 | 3 |
| Researcher C | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher D | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher E | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 1 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher F | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher G | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher H | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher I | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher J | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 4 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| Researcher K | 1 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 week | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 3 week | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 |
| | 4 week | 4 | 2 | 3 | 4 | 3 |

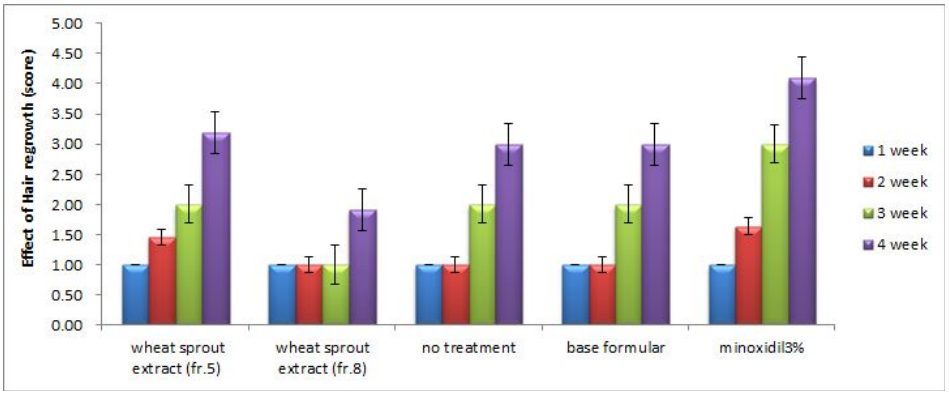



Fig. 6-3. Effect of hair regrowth score. Hair regrowth was evaluated by the gray or black colored area (%) on the reverse side of the skin.

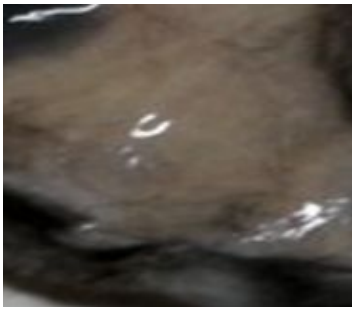
## 3.2 육안적 관찰(경피 내측 효과)

동물실험 4(28일)주째 마우스를 경추 도살 한 후 등 조직을 적출 하였으며, Fig. 6-4와 같이 적출된 피부의 안쪽을 육안으로 관찰하였다. Kawano 등[216]은 모발이 성장기로 접어들 때 등(안쪽) 피부는 회색 또는 검정색으로 바뀐다는 것을 검증하였다. 이와 같은 연구보고를 근거로 본 실험에서 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군의 등 안쪽 피부색이 완전한 검정색임을 확인 할 수 있었고 이로 인해 육안적인 관찰(외형)에서 모발이 적게 자랐지만 결과적으로 wheat sprout (fr. 5)군이 발모 촉진 효과가 있음을 확인할 수가 있다. 반면, 미녹시딜 3% 군에는 이미 육안적인 관찰(외형)에서 모가 거의 다 자랐기 때문에 퇴행기로 접어듦을 확인할 수 있었다.

(a) wheat sprout (fr. 5)

(b) wheat sprout (fr. 8)

(c) no treatment



(d) base formular

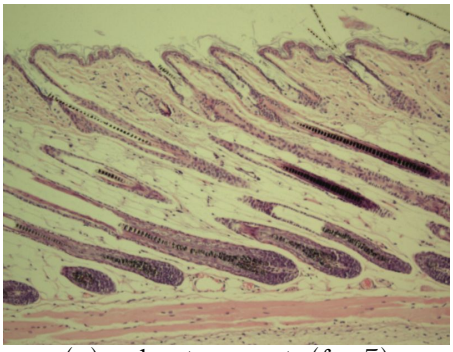
(e) minoxidil 3%

Fig. 6-4. Hair growth at the reverse side of the skin. After gray color skin was detected, their skin was isolated and the reverse side was photographed to evaluate anagen induction.

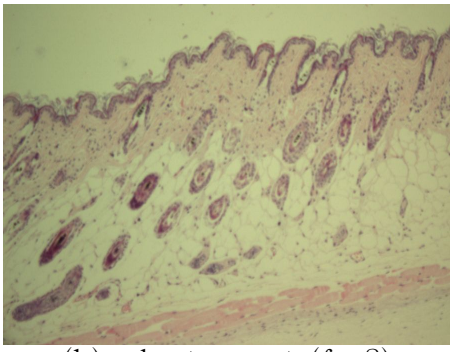
## 3.3 Mouse 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin)

모낭의 형태학적인 변화를 살펴보기 위해 실험시작 4주(28일)째 mouse를 경추 도살하여 얻은 피부 조직을 hematoxyline & eosin 염색하여 광학현미경으로 모낭의 형태를 관찰하였다. Fig. 6-5에서 보는바와 같이 양성대조군인 미녹시딜 3%군과 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군에서 정상군인 무처리군에 비해 모낭의 수가 많아졌고, 모낭길이가 증가하였으며 피부표면으로 자라는 모낭 형태를 하고 있었다. 조직 절편상에서 모낭의 길이와 위치 등은 모발 성장주기에서 모낭의 상태를 정하는 중요한 척도로서, 이러한 결과는 실험군의 wheat sprout (fr. 5)군에서 대조군에 비해 성장기로의 전이가 빠르게 진행되었음을 의미한다.

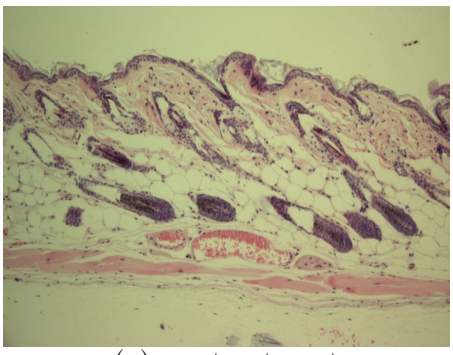
이경미 등[217]은 발모효과에 대한 연구에서 C57BL/6 마우스의 육안적 찰 후 hematoxyline & eosin 염색법으로 조직학적 분석을 통해 모낭의 수가 많고 모낭의 크기가 크며, 모근의 길이가 길어지면 발모 효과가 있다고 하였다. 또한, 김미향과 김영철[218]에 의하면 성장기(anagen) 단계에서는 모낭의 길이가 증가하고 퇴행기(catagen) 단계에서는 모낭 길이가 줄어든다고 보고하였다.



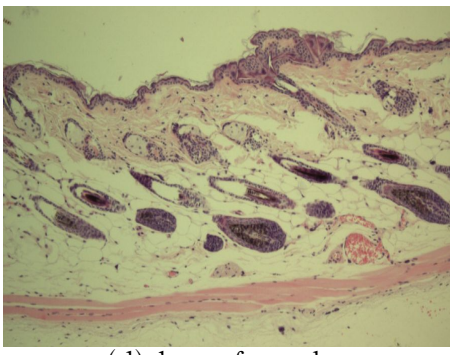
(a) wheat sprout (fr. 5)



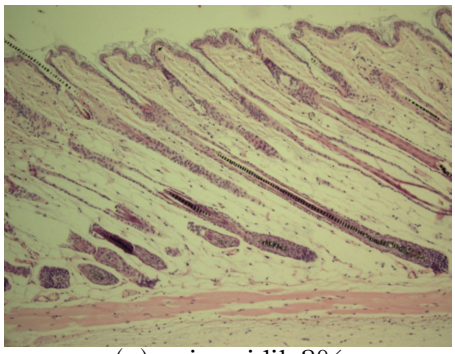
(b) wheat sprout (fr. 8)



(c) no treatment



(d) base formular



(e) minoxidil 3%

Fig. 6-5. Tissue observation (with hematoxylin & eosin) by H&E optical microscope (100X).

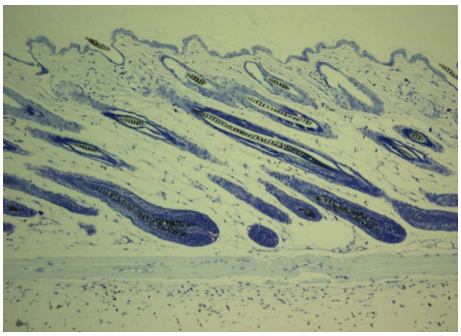
## 3.4 조직학적 분석(Toluidin Blue)

실험군과 대조군에서의 비만세포의 변화를 살펴보기 위해 실험시작 4주(28일)째 mouse를 경추 도살하여 적출한 피부조직을 toluidine blue 염색하여 광학현미경으로 비만세포의 수를 관찰하였다. Fig. 6-6에서 보는바와 같이 양성대조군인 미녹시딜 3%군과 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군에서 정상군인 무처리군에 비해 비만세포의 수가 감소했음을 확인하였다. toluidine blue 염색의 조직절편상에서 비만세포의 감소는 성장기을 알 수 있는 또 하나의 척도이다. 이러한 결과는 실험군의 wheat sprout (fr. 5)군에서 대조군에 비해 성장기로 진행되고 있음을 의미한다. 김미향과 김영철[218]은 성장주기에 따른 비만세포수의 차이를 보고하였다. 그 결과 비만세포의 수는 성장기 초기에 가장 적게 관찰되었고 성장기 후기에 가장 많이 증가하여, 퇴행기에 최대로 늘어나 다시 모낭이 성장기로 들어가면서 비만세포의 수가 감소하는 주기를 가지고 있음을 보고하였다. 이와 같이 실험군인 wheat sprout (fr .5)군에서 선행 연구와 일치함에 따라 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군이 모발 성장촉진을 시켜줌을 알 수가 있다.

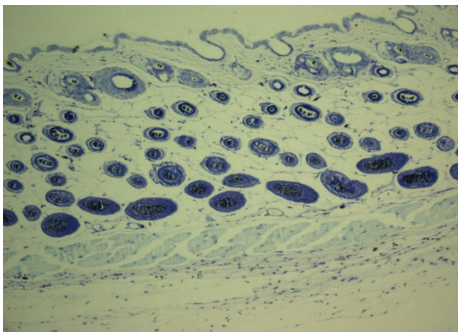
현대인들의 탈모 인구 증가 요인인 식습관의 변화는 알코올, 지나친 육류 위주의 식단, 가공 및 인스턴트식품의 섭취로 탈모에 직·간접적인 영향을 주고 있다[219]. 탈모에 종류는 원형탈모증, 휴지기 탈모증, 생장기 탈모증, 남성형 탈모증, 여성형 탈모증, 지루성 탈모증 등이 있다[220]. 최근 두피관리에 대한 인식이 확산되고 있는 추세이며 탈모에 대한 다양한 치료법이 시행되고 있으며[221], 탈모관련 산업은 성장기로 들어섰음을 알 수 있다[222].

본 연구에 사용된 C57BL/6 마우스는 모발생리 연구에 많이 사용되는 melanin 합성이 모발성장 주기와 잘 일치하여 피부색으로 성장주기를 판정할 수 있는 장점을 가지고 있다[223]. Toluidine blue 염색은 비만세포 수의 변화를 통해 생장기 초기에는 비만세포수는 최소로 감소하고 생장기 중기에서는 다시 증가하기 시작하여 휴지기보다 훨씬 많이 증가한다고 하였으며, 생장기말에는

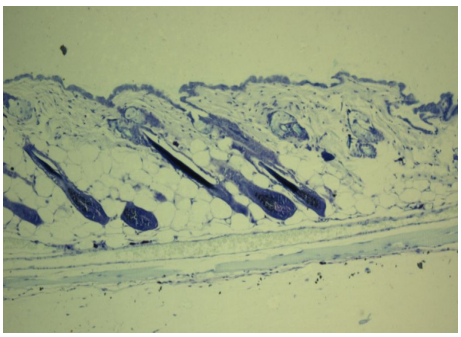
휴지기와 비슷하게 감소한다고 하였다[224]. 본 연구에서 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군에서 toluidine blue 염색을 분석한 결과가 다양한 선행연구와 일치함에 따라 발모 및 모발 성장을 촉진시킴을 알 수가 있다.



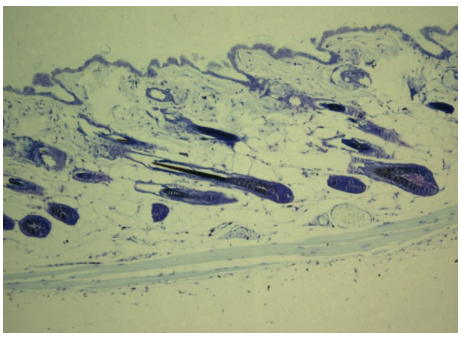
(a) wheat sprout (fr. 5)



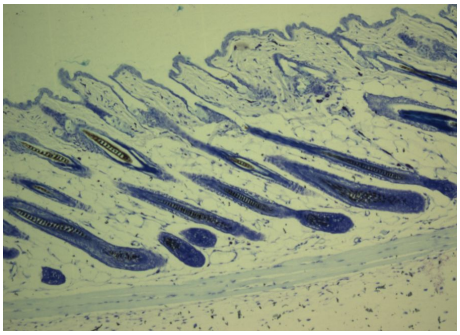
(b) wheat sprout (fr. 8)



(c) no treatment



(d) base formular



(e) minoxidil 3%

Fig. 6-6. Tissue observation (with toluidine blue dye) by optical microscope (100X).

# 제 7 장 밀싹 추출물이 두피 면역 과민반응에 미치는 영향

## 1. 실험재료

### 1.1 실험시료

Cytokine 측정은 Mouse cytokine array panel A을 알앤디시스템(R&D systems, Mineapolis, MIN, USA)에서 구매하여 사용하였고, 2, 4-Dinitrochlorobenzene(DNCB)와 RIPA buffer는 시그마-알드리치사(Sigma-Aldrich Chemical Co, St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였다.

### 1.2 실험동물

생후 6주된 male BALB/c mice를 ㈜다물사이언스(Daejeon, korea)로부터 분양 받아 조선대학교 의과대학 동물 실험실에서 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 실내온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 조명주기는 12시간씩 밤과 낮을 유지하였으며, 실험 기간 동안 물과 사료(삼양사료)는 자유로이 공급하였다. 실험은 마우스 10마리씩 3군으로 나누어 비교 하였으며, 총 30마리를 실험에 사용하였다.

# 2. 실험방법

## 2.1 밀싹 재배 및 추출

금강밀은 각각 200 g씩 정량하여 수돗물에 4~5 회 세척한 후 1차 증류수에서 6시간 동안 불려 놓았다. 불린 밀은 물을 제거한 후 용기에 담에 2시간에 한 번씩 분무기로 수분을 준 후 마르지 않게 48시간 동안 거즈로 덮어 싹을 틔운 후 모판에 심고 12일 동안 동일 조건에서 재배하여 채취한 후 건조하였다. 건조된 밀싹은 믹서를 이용해 분쇄한 후 밀싹을 80% 에탄올을 이용하여 3일간 상온에서 추출하였다. 밀싹 추출물은 centrifuge를 이용해 층 분리한 후 evaporator로 hydrophobic 층을 농축하여 본 실험에 사용하였다.

## 2.2 실험동물 처치 및 실험방법

생후 6주된 BALB/c mouse(male)를 1주간 적응 시킨 후 mouse의 등을 먼저 animal clipper로 제모한 뒤 다시 미용용 제모제를 이용하여 제모를 하였다. 시료도포는 제모 당일로부터 40일간 제모부위에 Fig. 7-1과 같은 방법으로 월요일부터 토요일까지 오후 3시에 경피 도포 하였으며, 도포양은 약 0.2 mL로 붓을 이용하였다. 실험은 대조군(normal), 양성대조군(DNCB), 실험군인 밀싹 추출물(WS)군으로 각 군당 10마리씩 총 30마리를 실험에 사용하였다.

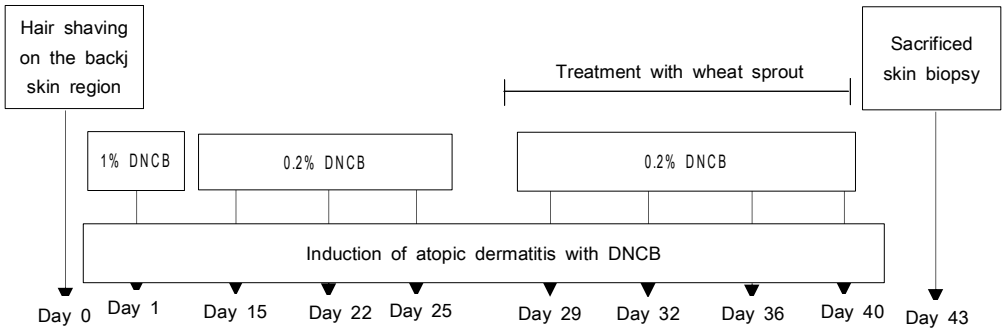



Fig. 7-1. Diagram of experimental procedure[225].

## 2.3 Cytokine 측정

실험동물은 밀싹 추출물 최종 도포 후 3일째에 경추도살 후 경피와 비장을 적출하였다. 경피 조직과 비장조직 0.1 g에 2 mL 단백질분해효소 억제제가 들어 있는 조직 균질화 완충액(RIPA buffer, Sigma-Aldrich Chemical Co, St. Louis, MO, USA)을 첨가하여 polytron homogenizer로 균질화시켰다. 냉장원심분리기에서 10,000 G로 5분 동안 원심분리 시킨 후 상층액을 취하여 cytokine 측정을 위한 시료로 사용하였다. Cytokine의 측정은 mouse cytokine 측정 kit(Mouse cytokine array panel A, R&D systems. Mineapolis, MIN, USA)을 이용하여 제조회사의 지시(protocol)에 따라서 측정하였다.

① 4-well multi-dish의 각 well에 2 mL Array buffer 6(blocking buffer)를 분주한다.

② 2 mL Array buffer 6가 분주된 4-well multi-dish의 각 well에 Mouse cytokine array panel A membrane을 각각 1장씩 첨가하고, rocking platform shaker에서 1시간 동안 흔들어(shaking) 준다.

③ 시료 1 mL에 0.5 mL Array buffer 4를 혼합하여 준비한 각 시료액에 Mouse cytokine array panel A detection antibody cacktail 15 μL를 각각 첨가하여 혼합하여 상온에서 1시간 동안 방치하여 시료-antibody 혼합물을 준비한다.

④ Mouse cytokine array panel A membrane이 들어있는 4-well multi-dish의 각 well에서 Array buffer 6를 제거한 후 시료-antibody 혼합물을 각각의 well에 첨가하여 4℃에서 rocking platform shaker로 overnight shaking 시킨다.

⑤ 4-well multi-dish의 각 well에서 membrane을 조심스럽게 꺼내서 20 mL washing buffer 가 담긴 plastic 통에 넣고 rocking platform shaker로 10분간 shaking 시킨다.

⑥ Plastic 통에서 washing buffer를 제거한 후 다시 20 mL washing buffer를

넣고 rocking platform shaker로 10분간 shaking 시킨다.

⑦ 새로운 plastic 통에 Streptoavidin-HRP 용액 2 mL 씩 분주하고 Mouse cytokine array panel A membrane을 넣어서 상온에서 rocking platform shaker로 30분간 shaking 하여 반응 시킨다.

⑧ 각 plastic 통에서 membrane을 조심스럽게 꺼내서 20 mL washing buffer가 담긴 plastic 통에 넣고 rocking platform shaker로 10분간 shaking 시킨다.

⑨ Plastic 통에서 washing buffer를 제거한 후 다시 20 mL washing buffer를 넣고 rocking platform shaker로 10분간 shaking 시킨다.

⑩ 새로운 plastic bag에 Mouse cytokine array panel A membrane을 넣고 Chemi Reagent mix 1 mL를 첨가하여 1분간 후 chemi reagent를 제거하고 X-ray film에 2분간 노출시켜서 현상 하였다.

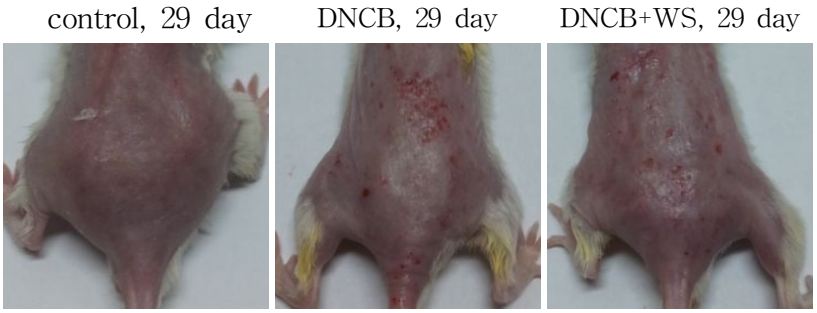
⑪ X-ray 필름에 감광시킨 후 나타난 dot의 intensity는 image analyzer (1D ver. 2.1, Pharmacia biotech, Lodon, UK)로 분석하였다.

# 3. 실험 결과 및 고찰

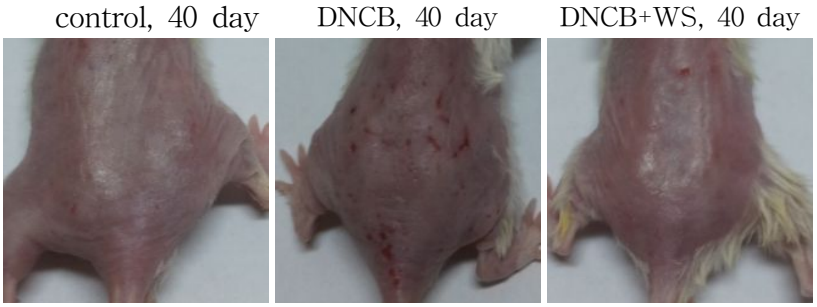
밀싹 추출물이 두피 면역에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 BALB/c mice를 제모제를 이용해 제모한 후 아토피를 유발시킬 때 사용되는 DNCB(2, 4-Dinitrochlorobenzene)를 사용해 인위적으로 아토피를 유발 시켰다. 밀싹 추출물이 아토피가 일어나고 있는 두피에 어떤 영향을 미치는지에 대해 육안적 관찰과 조직학적 분석 및 염증관련 cytokine을 측정한 실험 결과는 다음과 같다.

## 3.1 육안적 분석(외형 효과)

DNCB를 도포하여 아토피성 피부염이 유발된 것을 육안으로 확인한 후 DNCB를 도포시작 29일째에 BALB/c mice를 대조군(control)과 양성대조군(DNCB), 실험군(WS)으로 나누어 육안적으로 관찰한 결과는 Fig. 7-2과 같다. BALB/c mice의 경피에 피부 염증성 병변인 홍반의 크기나 수가 29일에 비하여 40일에 양성대조군(DNCB)에서는 약간의 감소가 있었으나, 실험군(WS)에서는 현저히 감소함을 확인하였다. 40일째 실험군(WS)의 경피 염증 반응이 대조군(control)과 거의 유사함을 확인 할 수가 있었다.




(a) before




(b) after

Fig. 7-2 Atopic dermatitis induced with wheat germ extract, after 29 and 40 days.

## 3.2 조직학적 분석(Hematoxylin & Eosin)

실험 43일째 mouse를 경추 도살하여 얻은 피부 조직을 hematoxylin & eosin 염색 및 toluidine blue 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 7-3과 같다. 피부조직을 hematoxylin & eosin 염색하여 광학현미경으로 200배 확대하여 표피, 진피 및 피하지방 층의 부위에서 염증세포를 관찰하였다. 그 결과 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB)에서 염증세포수가 아주 많이 증가함을 확인하였다. 그러나 실험군(WS)에서는 양성대조군(DNCB)에 비해 염증세포 수가 현저히 감소됨을 확인함에 따라 실험군(WS)인 밀싹 추출물은 염증을 저해하는 것으로 판단된다.

## 3.3 조직학적 분석(Toluidin Blue)

실험시작 43일째 mouse를 경추 도살하여 얻은 피부 조직을 toluidine blue 염색하여 광학현미경으로 비만세포를 관찰하였다. Fig. 7-4에서 보는바와 같이 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB)에서 비만세포의 수가 증가함을 확인하였다. 반면, 실험군(WS)은 대조군(control)에 비해 비만세포의 수가 증가 되었지만  양성대조군(DNCB)보다는 현저히 감소됨을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 실험군(WS)인 밀싹 추출물이 염증을 완화시켜 줄 수 있음을 의미한다.

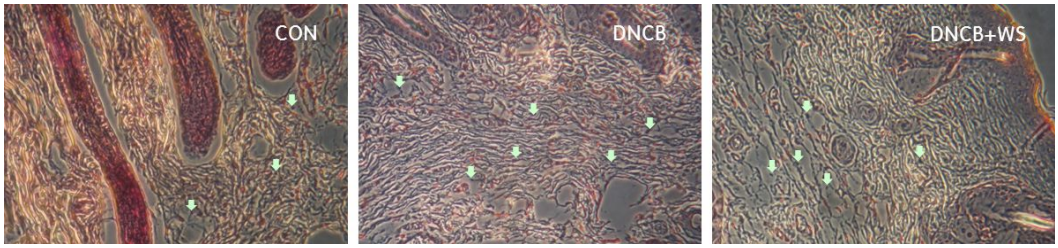



Fig. 7-3. Histological features of skin in the groups of mice studied: control (CON), dinitrochlorobenzene(DNCB) and dinitrochloro -benzene + wheat sprout(DNCB+WS). Mice were studied 3 days after last WS treatment (haematoxylin and eosin staining, magnification x200). Inflammatory cells (arrows) were observed dermis.

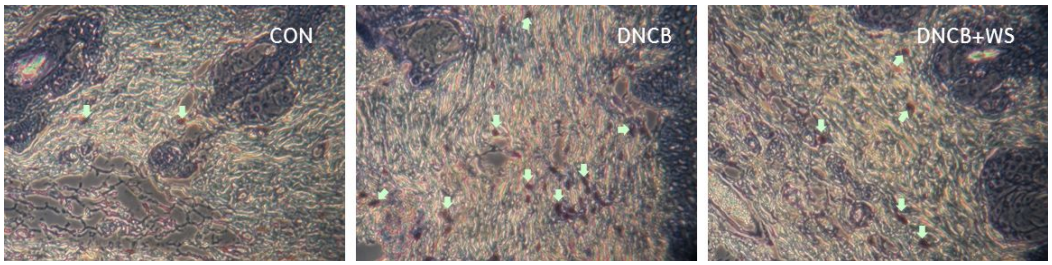



Fig. 7-4. Histophatological analysis of skin in the groups of mice studied: control (CON), dinitrochlorobenzene(DNCB) and dinitrochloro -benzene + eat sprout(DNCB+WS). Mice were studied 3 days after last WS treatment (touidine blue staining, magnification x200). Mast cells (arrows) were observed dermis.

## 3.4 Cytokine 분석

실험동물은 밀싹 추출물 최종 도포 후 3일째 경추도살 후 경피와 비장을 적출하였다. Cytokine의 측정은 mouse cytokine 측정 kit(Mouse cytokine array panel A, R&D systems. Mineapolis, MIN, USA)을 이용하여 제조회사의 지시(protocol)에 따라서 측정한 결과는 다음과 같다.

### (1) 피부조직의 cytokine 분석

피부세포에서는 granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), interferon-γ(IFN-γ), interleukin(IL)-1a, IL-1b, IL-6, IL-8 및 tumour necrosis factor-α(TNF-α) 등 여러 가지 cytokine을 생산하며 이들은 피부 염증반응에 관여하는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서 mouse의 염증관련 cytokine kit을 이용하여 24가지 cytokine에 대해 피부조직을 분석하였다. 그 결과 대조군(control), 양성대조군(DNCB), 실험군(WS)의 사이에서 C5/C5a, GM-CSF, IL-1a, IL-16, IFN-gamma-inducible protein 10(IP-10), CXCL9/MIG, MIP-2, 및 TMP-1 에 변화가 있는 것을 Fig. 7-5와 같이 확인하였다. Fig. 7-6과 같이 C5/C5a는 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB) 69%, 실험군(WS) 64%로 감소되었고, GM-CSF는 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB) 236%, 실험군(WS) 172%, 증가하였다. IL-1a는 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB) 211%, 실험군(WS) 192% 및 IL-16는 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB) 131%, 실험군(WS) 105% 로 각각 증가되었다. IP-10는 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB) 188%, 실험군(WS) 76%, CXCL9/MIG는 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB) 203%, 실험군(WS) 71%를 나타냈다. 그리고 MIP-2는 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB) 31%, 실험군(WS) 31%, TMP-1은 대조군(control)에 비해 양성대조군(DNCB) 56%, 실험군(WS) 43% 으로 각각 감소되었다.

C5/C5a는 보체계의 활성화시 연쇄 반응으로 생산되는 최종산물의 하나로 강

력한 화학주성 단백질이다. 이 단백질은 급성 염증반응에서 중요한 역할을 하는데, 피부에서도 초기 염증반응에 주로 관여하는 것으로 알려져 있다[226]. 본 실험에서는 대조군(control)에 비하여 양성대조군(DNCB)과 실험군(WS)에서 모두 C5/C5a 감소를 나타내서 본 실험의 DNCB 도포에 의한 만성 염증반응에 C5/C5a 가 관여하는 정도는 낮은 것으로 생각된다. GM-CSF는 골수에서 백혈구 생산을 증가시키며, 여러 가지 면역 반응을 촉진시키는 인자로 피부의 면역반응에서도 수지상세포의 활성화와 여러 가지 면역 세포의 활성화에 관여한다[227]. 본 실험에서는 대조군(control)에 비하여 양성대조군(DNCB)과 실험군(WS)에서 모두 감소를 나타냄에 따라 본 실험의 DNCB 도포에 의한 만성 염증반응에 관여하는 정도는 낮은 것으로 생각된다. IL-1a는 접촉성 피부염에서 염증반응과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되어 있고[228], IL-16도 피부의 접촉성 피부염 반응에서 T-cell 활성화에 의한 면역반응 증가에 관여하는 것으로 알려져 있다[229]. 그리고 IP-10와 CXCL9/MIG은 T-cell 활성화에 의한 면역반응에 관여하는 것으로 보고되어 있다[230]. 본 실험에서 피부조직의 IL-1a, IL-16, IP-10 및 CXCL9/MIG 모두 대조군(control)에 비해  양성대조군(DNCB)에서 증가되었고, 실험군(WS)에서는 양성대조군(DNCB)에 비해 감소되었다. DNCB 도포에 의해서 피부 면역반응이 증가되었으나, 실험군인 밀싹 추출물(WS)의 도포로 DNCB 에 의한 면역반응 증가가 현저히 감소된 것으로 생각된다.

이러한 결과는 실험군(WS)인 밀싹 추출물이 염증유발을 저해하는 것으로 추측할 수 있다.

(A)

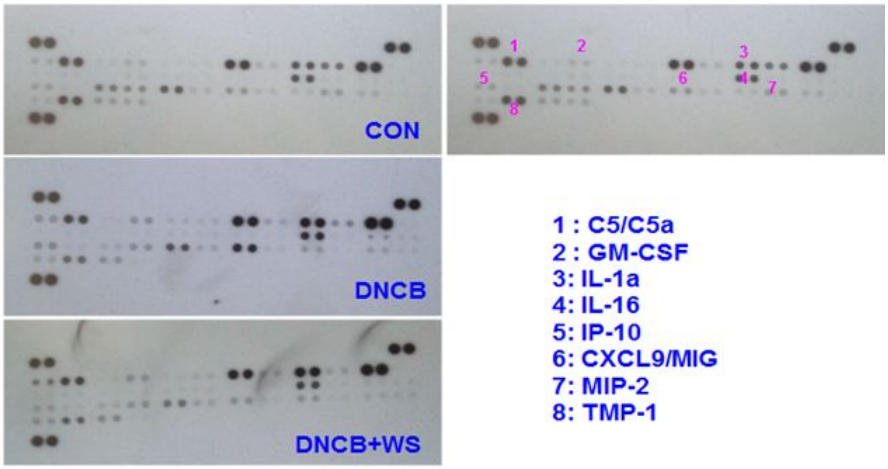



Fig. 7-5. Effects of WS on cytokines in skin tissue of DNCB treated mice. DNCB treated Balb/c mice were treated 10% (V/W) WBE with sprayed on skin at every 3 days for 5 times. The levels of skin cytokine was determined by Mouse cytokine assay kit and the intensity of the dot was quantified by densitometric analysis.

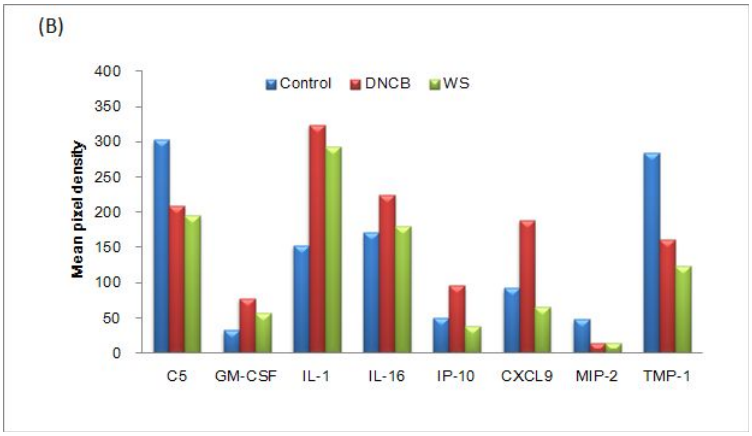



Fig. 7-6. Effects of WS on cytokine in skine tissue of DNCB treated mice. DNCB treated Balb/c mice were treated 10%(V/W) WBE with sprayed on skine at every 3 days for 5 times. The levels of skine cytokine wase determined by Mouse cytokine assaay kit and the intensity of the dot was quantified by densitometric analysis.

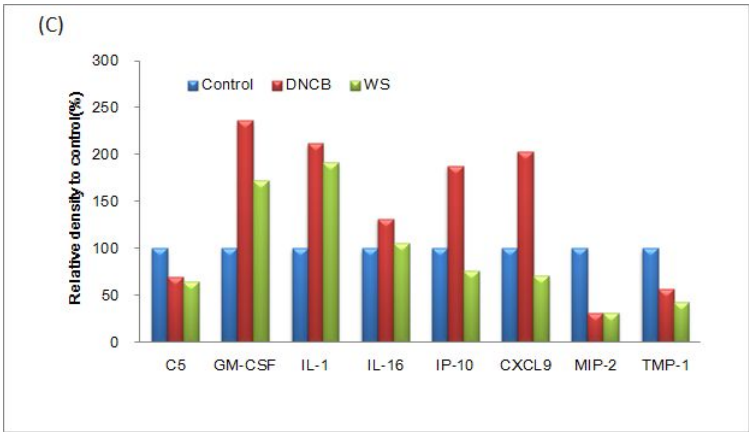



Fig. 7-7. Relative density to each control(Skin cytokines).

### (2) 비장조직의 cytokine 분석

비장조직의 염증성 cytokine을 측정하여 Fig. 7-8, Fig. 7-9, Fig. 7-10과 같이 대조군(control), 양성대조군(DNCB), 실험군(WS)에서 C5/C5a, ICAM-1, IL-1b, IL-1ra, IP-10, M-CSF, CXCL9/MIG 및 TNF-α에 변화가 있는 것을 확인하였다. 그러나 대조군(control), 양성대조군(DNCB), 실험군(WS) 사이에 C5/C5a, ICAM-1, IL-1b, IL-1ra, IP-10, M-CSF, CXCL9/MIG 및 TNF-α의 변화율은 큰 차이가 없었다.

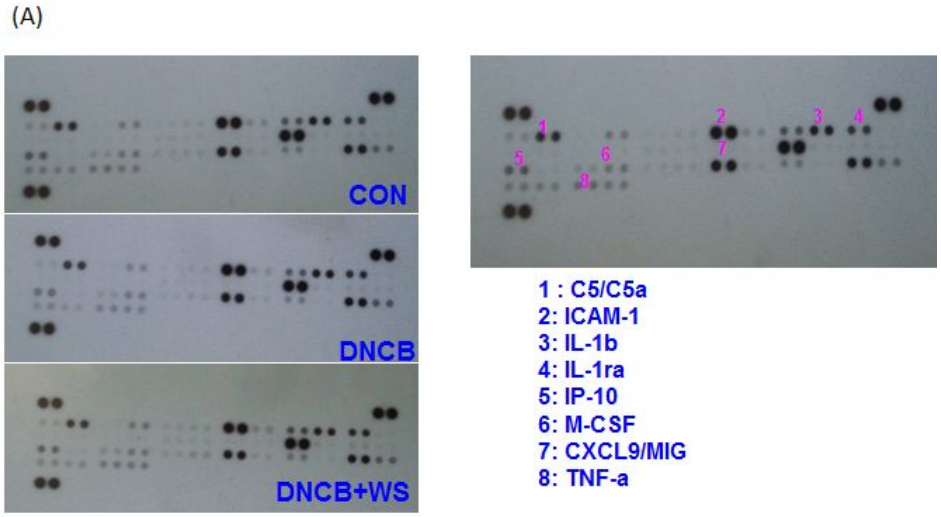



Fig. 7-8. Dot blot analysis of spleen cytokines.

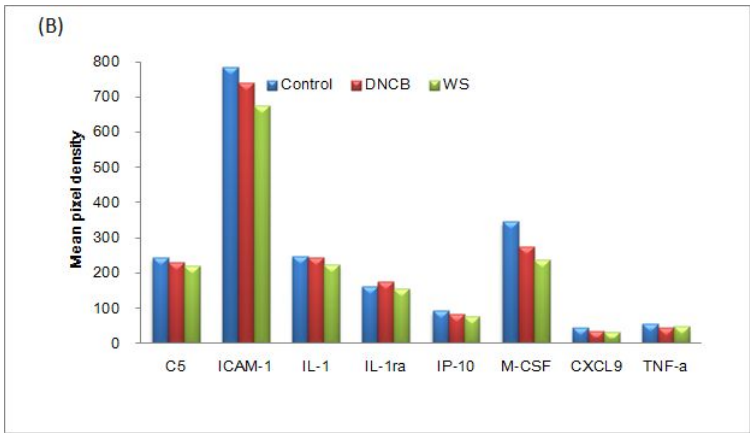



Fig. 7-9. Effects of WS on cytokines in spleen tissue of DNCB treated mice. DNCB treated Balb/c mice were treated 10%(V/W) WBE with sprayed on skin at every 3 days for 5 times. The levels of spleen cytokine was determined by Mouse cytokine assay kit and the intensity of the dot was quantified by densitometric analysis.

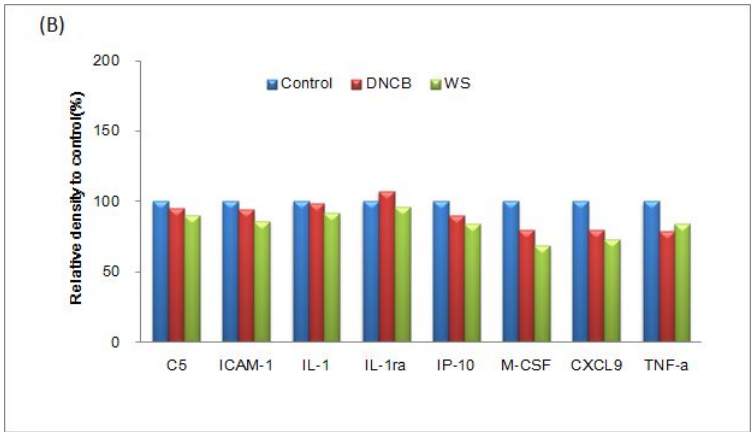



Fig. 7-10. Relative density to each control(Spleen cytokines).

# 제 8 장 결론 및 제언

밀(wheat, Triticum aestivum L.)은 외떡잎 식물 또는 단자엽식물로서 떡잎이 한 장 나는 속씨식물에 속한다. 밀싹이라고 명명되는 Wheat sprout는 밀이 발아하여 자라는 과정에서 밀의 마디 부위가 생성되기 전의 어린 새싹을 말한다. 전통적으로 밀싹의 대표적인 기능으로는 β-thalassemia라고 하는 지중해성 빈혈환자에게 매우 좋은 효능이 있다고 보고되어 있다. 또한 밀싹 즙에는 산화제인 비타민 E가 풍부하고 노화방지제로 좋은 효능이 있으며, catalase 및 peroxidase 활동이 아주 강해 노인성 백내장을 감소시킨다고 하였다. 본 연구에서는 천연물질로써 강력한 항산화작용이 있는 밀싹 추출물의 hydrophobic 층을 이용해 모발 성장 및 두피 면역에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 실험적 연구를 수행한 결과는 다음과 같다.

## 1. 밀싹의 문헌적 고찰

밀에 생리활성과 활용방안을 알아보기 위해 밀에 일반적인 사항과 밀싹이 가지고 있는 주요 성분들 최근 연구 동향에 대한 결론은 다음과 같다.

밀에 연구는 가공특성과 물리화학적 특성에 관한 연구로 국한되어 있을 뿐이며, 국산밀의 경우 품종별 영양성분에 제한적임을 알 수가 있었다. 또한, 밀싹은 국내 문헌은 보고된 바가 없고, 국외에는 항암 활성, 항산화 활성, 항궤양 활성, 혈류 개선 활성과 같은 우수한 생리활성에 활용되고 있었다.

이에 본 연구를 토대로 밀싹을 미용산업에 다양하게 접목한다면 침체되어 있는 경제 산업에 분야에 파급적인 효과가 있을 것으로 생각된다.

## 2. 밀싹 재배조건 확립

국산밀 4품종 금강밀, 우리밀, 조경밀, 백중밀과 수입산밀 4품종 NS(미국산), WH(미국산), ZCW(캐나다산), 중국산의 성장 비교에서 국산밀이 폭과 두께에서 우수함을 알 수 있었다. 성장 길이에서 수입산밀 중 캐나다산밀이 더 잘 자람을 알 수 있었으나 성장과정 중 토양에 곰팡이 균으로 인한 갈변현상이 생겨 밀싹을 실험에 사용 할 수 없었다. 국산밀은 성장률이 비슷하였지만 수급률에 한정적임을 감안해 국내에 가장 많이 유통되는 금강밀을 본 실험에 사용하였다.

원두커피 부산물 첨가에 따른 밀싹의 성장과 엽록소 성분의 비교한 실험 결과는 다음과 같다. 밀싹의 성장률은 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60%, 20%, 0%, 80%, 100% (w/w) 순으로 성장하였다. 각 군 별로 chlorophyll 함량을 측정한 결과 일반 토양에 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60% (w/w)에서 가장 높은 chlorophyll 함량을 나타내었다. 토양 분석 결과 원두커피 부산물을 혼합한 토양 40%, 60% (w/w)를 함유한 토양에서 농경지 적정기준에 포함됨에 따라 시중에 유통되는 토양에 비해 밀이 성장하는데 더 적절하다고 볼 수가 있다. 결론적으로 본 실험을 통해 폐기되는 원두커피 부산물은 밀싹 성장을 촉진시킴을 확인함에 따라 버려지는 폐자원을 이용해 친환경 퇴비로써, 식물 재배 관련분야에 생육환경을 개선하는데 큰 도움을 줄 것으로 사료된다.

## 3. RAW 246.7 대식세포에서의 밀싹 추출물의 항염증 효과

밀싹 추출물의 hydrophobic 층을 이용하여 Raw 246.7 대식세포에서 MTT assay와 NO assay를 수행하였다. 그 결과 total, EtOAc, n-BuOH 층의 50 ㎍에서 세포 독성이 관찰되지 않았고 NO 생성 억제활성이 나타났다.

밀싹 추출물의 분획을 좀 더 세분화하여 8가지 fraction으로 나눈 후 TLC를 이용하여 유용성분이 있을 거라 생각되는 fraction 1, fraction 5, fraction 8를 선택하여 MTT assay와 NO assay를 수행하였다. 그 결과 fraction 1, fraction 5에서 독성이 관찰되지 않았고 500 ㎍의 농도에서 NO 생성 억제 활성이 검출되었다 그러나 fraction 8에서는 독성과 염증이 검출됨을 알 수 있었다.

밀싹 추출물 및 분획을 이용하여 iNOS의 발현에 대한 영향을 측정한 결과 LPS에 의해 증가된 iNOS가 밀싹 추출물과 EtOAc 층과 BuOH층 그리고 Fraction1과 5에서 감소되었음을 확인하였다.

결론적으로 밀싹 추출물의 hydrophobic 층은 항염증 효과가 있음을 의미한다.

## 4. 밀싹 에탄올 추출의 C57BL/6 Mouse에 대한 발모효과

생후 6주령의 C57BL/6 mouse를 이용해 4주(28일)동안 경피 도포 후 육안적 관찰과 조직학적 분석을 통해 발모 효과를 알아보았다. 육안적 관찰에서 4주째 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군에서 피부색이 검정색에 가까움을 확인할 수 있었고, 모발이 성장기로 접어들 때 등(안쪽) 피부는 회색 또는 검정색으로 바뀐다는 것을 확인하였다. Hematoxylin & eosin의 조직학적 분석에서 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군에서 모낭의 길이가 길어져 피부표면으로 표출되어 있는 현상이 발모효과와 연관됨을 확인하였다. 또한, toluidine blue 염색법을 통해 비만세포를 비교함으로써, 모발 주기를 알 수 있는데 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군에서 성장기로 접어들었음을 확인하였다.

결론적으로 밀싹 추출물이 C57BL/6 mouse(female)의 육안적 관찰 및 조직학적 분석에서 실험군인 wheat sprout (fr. 5)군에서 모발 성장 촉진시킴을 알 수가 있었다.

## 5. 밀싹 추출물이 두피 면역 과민반응에 미치는 영향

경피 조직의 24가지 cytokine 측정한 결과 C5/C5a, GM-CSF, IL-1a, IL-16, IP-10, CXCL9/MIG, MIP-2, TMP-1의 총 8가지 cytokine 변화를 확인하였다. GM-CSF, IL-16, IP-10, CXCL9에서 양성대조군인 DNCB 도포군만 증가함을 보였고 실험군인 밀싹 추출물(WS)는 대조군인 control과 유사함을 확인하였다.

비장조직의 24가지 cytokine 측정에서 C5/C5a, ICAM-1, IL-1b, IL-1ra, IP-10, M-CSF, CXCL9/MIG, TNF-α에 변화를 확인하였다. C5/C5a, ICAM-1, IL-1b, IP-10, M-CSF, CXCL9/MIG, TNF-α는 전체적으로 감소함을 확인하였고 IL-1ra에서 정상군에 가까움을 확인하였다.

결론적으로 실험군인 밀싹 추출물(WS)은 탈모에 원인이 될 수 있는 염증유발을 저해하는 것으로 추측할 수 있다.

# 6. 제 언

본 연구결과를 토대로 밀싹에 대한 활용방안을 몇 가지 제시하고자 한다.

첫째, 밀싹 대량 생산기술을 지역농가에 지도 이전함으로써 고부가 가치 작물로서의 대량생산을 실현할 수 있게 하여 산업화에 역점을 둘 수 있다.

둘째, 국산밀 재배시 저농약으로 밀을 재배하고 있으나 밀싹은 10일 이내의 단기간 재배가 가능하다는 장점을 가지고 있다. 이러한 밀싹은 수경재배를 통해 다양한 영양공급으로 재배를 할 수 있고, 성장기간 동안 뿌리까지 볼 수 있어 관상용의 효과까지 가져 올 수 있다. 또한 무농약 재배가 가능하여 친환경 농산물에 관심이 높은 현대인들에게 밀싹 재배를 통해 밀의 산업화를 실현할 수 있을 것으로 본다.

셋째, 밀싹을 활용해 기능성 화장품을 개발하여 미용산업에 다양한 측면에서 접근한다면 천연물로써 밀싹의 기준을 해석하고 이해하는데 아주 중요한 척도로써 가치가 있을 것으로 사료된다.

# 참 고 문 헌


1. Kim, K. O. and S. N. Kim (2011) The Effects of Self Perception on Hair Loss Factors on Health Management and Scalp. Hair Management. *Journal of the Korean Society of Design Culture.* 17: 50-59.
2. Lee, S. H. and J. R. Lee (2010) Association of Diffuse Hair loss of Adult Male on Stress, Self-confidence, and Depression. *J. Kor. Soc. Cosm.* 16: 1171-1179.
3. Ryu, E. M., H. J. Shin, and M. S. Na (2010) Effect of *Sparassis crispa* extracts on hair growth inhibition of hair-removed C57BL/6 mice. *J. Kor. Soc. Cosm.* 8: 181-190.
4. Ha, B. J. (2006) Studies on the Cause of Alopecia, and Its Research Trends. *J. Beau. Tricho.* 2: 5-15.
5. Ryu, E. J. (2004) *Production of Anti-Fungal Substance by Rahnella aquatilis.* Ph.D. Thesis. Dongeui University, Korea.
6. Lee, J. Y. (2007) *Comparison of Hair Composition among Normal Persons, Smokers and Mentally Retarded Children : Analysis of Minerals and Fra-X gene, and Electron Microscopic Investigation.* Ph.D. Thesis. Pusan National University, Korea.
7. Kim, H. S. and J. Y. Do (2010) A Study on the Preventing Hair Loss and Improving Hair Growth by using Naturopathy. *Journal of the Korean Society of Beauty and Art.* 11: 1-15.
8. Noh, Y. H., S. Y. Lee, S. G. Kim, J. H. Lee, S. Y. Jeong, and K. E. Choi (2012) The Effect of Artemisia Absinthium Extract on Hair loss

Improvement. *J. Kor. Soc. Cosm..* 18: 429-434.

9. Choi, H. J. (2004) *Trend of Patents on The Prevention of Hair loss or Hair growth.* M.S. Thesis. Konkuk University, Korea.
10. Kim, D. E. (2012) *Mitochondrial Protemics of wheat; Metaboloimcs of Wheat Root under Salinity Stress.* M.S. Thesis. Chunbuk National University, Korea.
11. Choi, B. S. (2008) *Biological activity of wheat germ and Qualitative character of the Sanghwa-byung.* Ph.D. Thesis. Kyonggi University, Korea.
12. Sin, H. T. (2006) *A Study on the Improvement in the Marketing Channel Structure of Korean Wheat.* M.S. Thesis. Chosun University, Korea.
13. Ryu, K. O. (2006) *Wheatgrass, nature's finest medicine : the complete guide to using grass.* Foods & Juices to help your health. p. 11. hurb world, Seoul, Korea.
14. Lee, S. H., Y. M. Lee, H. S. Lee, and D. K. Kim (2009) Anti-oxidative and Anti-hyperglycemia Effects of Triticum aestivum Wheat Sprout Water Extracts on th Streptozotocin-induced Diabetic Mice. *Kor. J. Pharmacogn.* 40: 408-414.
15. Nagaoka, H. (2005) Treatment of germinated wheat to increase levels of GABA and IP6 catalyzed by endogenous enzymes. *Biotechnol. Prog.* 21: 405-410.
16. Calzuola I., V. Marsili, and G. L. Gianfranceschi (2004) Synthesis of antioxidants in wheat sprouts. *J. Agric. Food Chem.* 11: 5201-6.
17. Singh, K., M. S. Pannu, P. Singh, and J. Singh (2010) Effect of wheat grass tablets on the frequency of blood transtusions in thalassemia

major. *Indian J. Pediatr.* 77: 90-91.

18. Marawaha, R. K., D. Bansal, S. Kaur, and A. Trehan (2004) Wheat grass juice reduces transfusion requirement in patients with thalassemia major: a pilot study. *Indian Pediatr.* 41: 716-720.
19. Marsili, V., I. Calzuola, and G. L. Gianfranceschi (2004) Nutritional relevance of wheat sprouts containing high levels of organic phosphates and antioxidant compounds. *J. Clin. Gastroenterol.* 38: 123-6.
20. Calzuola, I., F. Giavarini, P. Sassi, L. D. Angelis, G. L. Gianfranceschi, and V. Marsili (2005) Short acidic peptides isolated from wheat sprout chromatin and involved in the control of cell proliferation. Characterization by infrared spectroscopy and mass spectrometry. *Peptides.* 26: 2074-85.
21. Bonfili, L., M. Amici, V. Cecarini, M. Cuccioloni, R. Tacconi, M. Angeletti, and A. M. Eleuteri (2009) Wheat sprout extract-induced apoptosis in human cancer cells by proteasomes modulation. *J. Biochem.* 91: 1131-1144.
22. Kulkarni, S. D., J. Tilak, R. Acharya, N. S. Rajurkar, T. P. A. Devasagayam, and A. V. R. Reddy (2006) Evaluation of The antioxidant activity of wheatgrass(Triticum aestivum L.) as a function of growth under different conditions. *Phytother. Res.* 20: 218-227.
23. Bae, H. S., S. H. Chae, G. B. Song, M. J. Kim, W. J. Choi, and Y. S. Moon (2010) Omparison of the Heavy Metal Hair is Hathered and the Slopes. Korea. *J. Beauty Design.* 6: 119-127.
24. Do, E. J., M. Y. Hwang, S. Y. Kim, J. S. Lee, D. S. Yang, C. H. Yang, and M. R. Kim, (2011) The effect of Gyungokgo-gamibang extract on hair growth and protein expression in mice. *Kor. J. Herbology.* 26: 9-14.

25. Oh, H. J., H. K. Park, and S. Y. LY (2012) An assessment of hair loss ameliorating effect of medicinal plant extracts, amino acid and vitamin complex in human subject. *Korean Journal of Human Ecology.* 21: 587-596.
26. Choi, W. J. and S. Y. Bak (2007) The Study on the Patents for Hair Restorer, Hair Grower and Depilation Prevention Agent. *J. Beau. Tricho.* 3: 26-37.
27. Lee, E. J., Y. L. Cho and K. H. Cho (2009) The Study of Separation, Refinement, Functionality and Hair-inducing Activity of the Plant Extracts, Schizonepeta tenuifolia and Scutellatia Baicalensis. *J. Natural Science, SWINS.* 21: 61-78.
28. Kim, D. H. and S. N. Kim (2010) The Effect on Hair Loss for Impression Formation and Interpersonal Anxiety. *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetology.* 8(4): 247-258.
29. Oh, H. J., H. K. Park, and S. Y. Lee (2012) An assessment of hair loss ameliorating effect of medicinal plant extracts, amino acid and vitamin complex in human subject. *Korean Journal of Human Ecology.* 21(3): 587-596.
30. Park, H. Y., W. S. Lee, J. K. Park, D. W. Kim, S. Y. Ahn, Y. J. Jung, B. I. Ro, W. Y. Sim, S. W. Park, G. S. Choi, H. O. Kim, C. H. Huh, T. Y. Yoon, M. B. Kim, K. H. Kim, H. J. Song, and S. J. Yun (2009) An Open Label, Multi-center Clinical Trial of Topical 5% Minoxidil Solution for the Treatment of Male Androgenetic Alopecia (A Phase IV study). *The Korea Society of Aesthetics and Cosmetology.* 47: 295-302.
31. Lee, H. S. and S. Y. Hwang (2009) Effects of DCS® Hair Tonic on Hair growth promotion in an Alopecia Model of C57BL/6 Mice. *Korea Society*

*of Aesthetics and Cosmetology.* 7: 131-140.

32. An, G. S. and I. C. Hwang (2009) Hair Loss Prevention and Hair Growth Promotion by Herb Extracts which contain the Cultured Korean Wild Ginseng. *Journal of the Korea Soc. Beauty and Art.* 10: 221-226.
33. Choi, H. M., S. J. Hwang, J. S. Lee, E. J. Do, M. Y. KIm, and M. R. Kim (2011) Effects of Hair Tonic and Food including Korean Medicinal Herbs on Hair Growth in an Alopecia Model of C57BL/6 Mice. *Kor. J. Herbology.* 26: 119-124.
34. Kim, J. H. (2012) *The Preclinical and Clinical Effects of Herbal Product Containing Rosa multiflora Roots Extracts as a Main Component on the Hair Growth Promotion.* M.S. Thesis. Kangwon National University, Korea.
35. Lee, Y. M. (2008) *A Study on the Influence of Adenophora Radix Extract on Hair Growing.* Ph.D. Thesis. Sungshin Women's University, Korea.
36. Lee, S. Y. (2011) *Studies on Antifungal, Antioxidant, and Hair Growth Effect of Fractions from Angelia gigas Root.* Ph.D. Thesis. Wonkwang University, Korea.
37. Kwon, Y. R. (2013) *A Study of Formulation Development, Antioxidant Activity and Prevention Alopecia Effects of Seaweed Extract.* M.S. Thesis. Daegu Catholic University, Korea.
38. Lee, H. A. (2011) *Anti-inflammation and Hair Growth Promotion Effects of fermented Liriope platyphylla.* M.S. Thesis. Pusan National University, Korea.
39. Joo, H. H. (2008) *The Relationship betwee the antioxidation activity and promotion of hair growth of the Allium cepa extracts.* M.S. Thesis.

Chosun University, Korea.

40. Kim, Y. N. (2012) *Effects of Phellius linteus Water Extract on Benign Prostatic Hyperplasia, Acne Symptoms and Hair Growth.* M.S. Thesis. International University of Korea.

41. Shin, H. S. (2008) *Effects of Cuscutae semen extract on Hair regeneration.* M.S. Thesis. Kyung Hee University, Korea.

42. Lee, K. M. (2009) *Promotion Effect of Polygoni mulitiflori Radix Water Extracts on Hair Growth in C57BL/6 Mice.* M.S. Thesis. Keimyung University, Korea.

43. Jung, S. Y. (2007) *The experimental studies on the hair growth activity of Drynariae Rhizoma extracts in C57BL/6N mice.* M.S. Thesis. Woosuk University, Korea.

44. Zhang, N. N. (2013) *The extract of thuja orientalis promotes hair growth through inducing anagen phase in telogenic.* Ph.D. Thesis. Konkuk University, Korea.

45. Cho, M. S. (2007) *Promotion Effect of Sineungyangjindan Gamibang Extracts on Hair Growth.* Ph.D. Thesis. Keimyung University, Korea.

46. Kim, J. H. (2012) *The Preclinical and Clinical Effects of Herbal Product Containing Rosa multiflora Roots Extracts as Main Component on the Hair Growth Promotion.* M.S. Thesis. Kangwon National University, Korea.

47. Fogh, K. and K. Kragballe (2000) Eicosanoids in inflammatory skin diseases. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 63: 43-54.

48. Harris, S. G., J. Padilla, L. Koumas, D. Ray, and R. P. Phipps (2002) Prostaglandins as modulators of immunity. *Trends Immunol.* 23: 144-150.

49. Wu, Y., S. Karna, C. H. Choi, M. Tong, H. H. Tai, D. H. Na, C. H.

Jang, and H. Cho (2011) Synthesis and Biological Evaluation of Novel Thiazolidinedione Analogues as 15-Hydroxyprostaglandin Dehydrogenase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 54: 5260-5264.

50. Watanabe, K. (2011) Recent reports about enzymes related to the synthesis of prostaglandin (PG) F(2) (PGF(2alpha) and 9alpha, 11beta-PGF(2)). *J. Biochem.* 150: 593 - 596.
51. Colombe, L., A. Vindrios, J. F. Michelet, and B. A. Bernard (2007) Prostaglandin metabolism in human hair follicle. *Exp. Dermatol.* 16: 762 - 769.
52. Garza, L. A., Y. Liu, Z. Yang, B. Alagesan, J. A. Lawson, S. M. Norberg, D. E. Loy, T. Zhao, H. B. Blatt, D. C. Stanton, L. Carrasco, G. Ahluwalia, S. M. Fischer, G. A. FitzGerald, and G. Cotsarelis (2012) Prostaglandin D2 Inhibits Hair Growth and Is Elevated in Bald Scalp of Men with Androgenetic Alopecia. *Sci Transl Med.* 21: 1-21.
53. Garza, L. A., Y. Liu, Z. Yang, B. Alagesan, J. A. Lawson, S. M. Norberg, D. E. Loy, T. Zhao, H. B. Blatt, D. C. Stanton, L. Carrasco, G. Ahluwalia, S. M. Fischer, G. A. FitzGerald, and G. Cotsarelis (2012) Prostaglandin D2 inhibits hair growth and is elevated in bald scalp of men with androgenetic alopecia. *Sci. Transl Med.* 21: 126-134.
54. Matsushima, Y., T. Satoh, Y. Yamamoto, M. Nakamura, and H. Yokozeki (2011) Distinct roles of prostaglandin D2 receptors in chronic skin inflammation. *Mol. Immunol.* 49: 304 - 310.
55. Kim, H. S. (2011) *A Study on The Effect of Naturopathy for Improving State of Scalp, and Preventing Hair Loss.* M.S. Thesis. Youngsan University. Korea.
56. Ryu, E. J. (2005) A Molecular Biological Study of Hair Shape in Scalp.

*J. Tri. Soc. Kor.* 2:37-50.

57. Lee, G. Y. and B. S. Zang (2008) Study on the Tensile Strength of Bleached Hair. *Applied Microscopy.* 38: 251-257.
58. Kim, G. S., B. U. Jin, M. Kim, M. Y. Chang, B. H. Kim, and K. Y. Kim (2010) The Physicochemical Properties and Morphological Change of Altered Hairs in Elderly Men and Women. *Journal of beauty & trichology.* 6: 33-40.
59. Robbins, C. R. (2002) Chemical and Physical Behavior of Human Hair. New York: Spring-Verlag.
60. Hwang, J. D. (2007) *The Change of Hair according to the Bleaching Methods in the Pre-pigmentation Operation on Damaged Hair.* M.S. Thesis. Catholic University of Daegu, Korea.
61. Choi, E. J. (2013) *Physicochemical Damage and Morphological Change of Dark Brown and Blonde Hair with Chemical Treatment.* Ph.D. Thesis. Konkuk University, Korea.
62. Korea Association of Trichologists (2007) *두피모발관리사(Trichologist)* 3급. p. 42. 크라운출판사(Crown), Seoul, Korea.
63. 정숙희, 심선녀. 황종호. 강미정 (2008) *트리콜로지스트스토리북.* p. 26. 훈민사, 서울, 대한민국.
64. Ryu, E. M. (2010) *Effect of Sparassis crispa extracts on hair growth and inhibition of hair-removed C57BL/6 mice.* M.S. Thesis. Chosun University, Korea.
65. Kim, E. H. (2013) *A Study of Effects and Satisfactions on Hair and Scalp Management.* M.S. Thesis. Youngsan University, Korea.
66. Kim, S. H. (2012) *A Study on the Middle-aged Men's Hair Thickness Change by Scalp Acupuncture Point Massage.* M.S. Thesis. Sunmoon

University, Korea.

67. Lee, J. R. (2012) *A study on Natural Hair Dye Made with Black Soybeans.* Ph.D. Thesis. Nambu University, Korea.

68. 최근희, 김순희 이근광, 김문주, 곽형심, 김태윤, 이문환, 정지영, 봉재환, 유유정, 김희선 (2001) *모발과학(Hair Science)*. p. 22. 수문사, 경기도, 대한민국.

69. 하병조, (1999) *화장품학(Cosmetic science)*, 수문사, Seoul, Korea.

70. 최근희, 김순희 이근광, 김문주, 곽형심, 김태윤, 이문환, 정지영, 봉재환, 유유정, 김희선 (2001) *모발과학(Hair Science)*. p. 22. 수문사. 경기도, 대한민국.

71. Bea, S. H. (2003) A study on the relationship among hair type and human hair cuticle damage by cosmetic treatment condition. *Journal of Korean Beauty Society.* 9: 84-96.

72. Korea Association of Trichologists (2007) *한국두피모발관리사(Trichologist)*. 크라운출판사(Crown), Seoul, Korea.

73. Bea, S. H. (2003) A study on the relationship among hair type and human hair cuticle damage by cosmetic treatment condition. *Journal of Korean Beauty Society.* 9: 84-96.

74. Choi, B. R. (2008) lnspection of Natura Extracts Affecting Hair Growth Control. Ph.D. Kyungpook National University.

75. Kim, S. H. (2013) *Astudy on the usability of ginger essential oil shampoo for improvement of scalp and hair conditions.* Ph.D. Thesis. Hanyang University, Korea.

76. Han, J. S. and K. R. Lee (2010) A Reasearch of the effectiveness of far infrared ray and TDP therapy on the hair loss treatment. *The Korean Society for Aesthetics and Cosmetology.* 8: 187-199.

77. Korea Association of Trichologists (2007), *두피모발관리사(Trichologist) 3급*, pp. 7-8. 서울, 대한민국.

78. Lee, J. Y. (2011) *Enhancement of the Scalp Skin by Cleansing Education for the Career Soldiers*. M.S. Thesis. Konkuk University, Korea.

79. 정숙희, 심선녀, 황종호, 강미영, 김미정 (2008) *트리콜로지스트 스토리북.* pp. 26-27. 훈민사, 서울, 대한민국.

80. Kim, S. H. (2013) *Astudy on the usability of ginger essential oil shampoo for improvement of scalp and hair conditions.* Ph.D. Thesis. Hanyang University, Korea.

81. Seo, S. O. and M. S. Chang (2012) The Effect of Scalp Tonic and MTS on Scalp·Hair Condition. *The Korean Society for Aesthetics and Cosmetology.* 10: 863-878.

82. Ryu, E. J. and J. B. Kim (2005) Correlationship between Hair Loss and Scalp Hair Physiology. *J. Tri. SOC. Kor.* 2: 51-63.

83. Yu, N. G. (2007) *A Study on the Oriental Medical Cosmetic Method of Scalp and Hair Treatment.* M.S. Thesis. Hnnam University, Korea.

84. 조현, 황인영, 양수형, 정명애, 박종안, 송선영, 안기섭, 장여호, 장경자, 장정현, 진종언, 표영희, 김재웅, 한성수 (2010) *해부생리학,* p. 92. 동화기술, 경기도, 대한민국.

85. 김혜란, 임은진, 오선영, 오지영, 유유정, 정현화, 조찬휘 (2011) *두피모발관리.* 메디시언, 경기도, 대한민국.

86. 정영태, 김문주, 박미령, 이성내, 이애순, 장경옥, 최선아, 최영순 (2004) *인체해부생리학.* p. 172. 청구문화사, 서울, 대한민국.

87. Kim, K. O. (2012) *A Study on the Microorganism Species Diversity Based on Hair Contamination Recognition and Scalp Conditions.* Ph.D. Thesis. Seokyeong University, Korea.

88. Korfali, E., A. Bekar, S. Boyaci, S. Celik, Z. Ipekoglu, and M. Doygun (1994) The effects of hair on infection in craniotomy. *Turkish*

*Neurosurgery*. 4: 120-122.

89. Paus, R., G. Cotsarlis (1999) Thebiology ofhairfollicles, New England. JournalofMedicine. 12: 489-491.

90. Kim, K. O. (2012) *A Study on the Microorganism Species Diversity Based on Hair Contamination Recognition and Scalp Conditions.* Ph.D. Thesis. Seokyeong University, Korea.

91. 정영태, 권태신, 김계숙, 김기갑, 김선옥, 김선희, 김윤정, 박성희, 이성내, 이은숙, 이정애, 장경옥, 전영선, 정경아, 차영애, 채수형, 최선아, 최영선 (2009) *사람해부생리학.* p. 69. 청구문화사, 서울, 대한민국.

92. 조혜명, 김희정, 박미령, 이은숙, 장미혜, 전해정, 정연, 조기여, 채순님, 최경임 (2005) *피부학.* pp. 18-19. 성화, 서울, 대한민국.

93. Lee, Y. H. (2011) *The Effect of Scalp Solution for Scalp Hair Conditon in Young Women.* M.S. Thesis. Kyunggi University, Korea.

94. 이향우, 정민호, 정영태, 정주임, 박찬익, 최경임 (2007) *新 화장품과학.* p. 28, 성화, 서울, 대한민국.

95. Kim, S. N. (2008) *Effect of catechin compound in green tea on antioxidantion of scalp.* M.S. Thesis. Chosun university, Korea.

96. Park, Y. A. (2011) *Study of the utilization of hair products with a scalp and hair condition.* M.S. Honam university, Korea.

97. Kim, K. S. (2008) *A Study of Management of Sensitive Scalp. M.S. Thesis.* Chung-Ang University, Korea.

98. Lee, E. K. (2009) *Research on the female actual condition of scalps and condition for middle age people.* M.S. Thesis. Daegu Haany University, Korea.

99. Jeong, H. E. (2013) *Comparison of Hair Awareness and Preference of Korean and Migrated Females.* M.S. Thesis. Gachon University, Korea.

100. 곽인실, 김영배, 리순화, 심선녀, 이진희, 조지훈, 주은령, 한국두피모발관리사협회 (2011) *두피모발관리학*. 군자출판사, 서울, 대한민국.

101. Im, E. J. and C. H. Cho (2011) Comparison of MIneral Contents in Hair Between Alopecia and Non- alopecia Using a ICP-MS. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*. 17: 1059-1065.

102. Lee, J. S., J. Y. Son and S. H. Eo (2008) A Study on Toxic Heavy Metal by Analysis of Alopeciec Hair. *J. Kor. Soc. Cosm.* 14: 857-865.

103. Kim, H. S. and S. M. Kang (2010) Bacillus sp. KN-517 Keratinase by Processing Simulated Morphological Changes in Normal. *J. Kor. Soc. Cosm.* 16: 556-568.

104. 하병조 (1999) *화장품학(Cosmetic Science)*. 수문사. 경기, 대한민국.

105. Lee, S. H. and J. R. Lee (2010) Association of Diffuse Hair loss of Adult male on Stress, Self-confidence, and Depression. *J. Kor. Soc. Cosm.* 16: 1171-1179.

106. Koblenzer, C. S. (1983) Psychosomatic concepts in dermatology; A dermatologist-psychoanalyst's viewpoint. *Arch Dermatol,* 119: 051-512.

107. Kim. D. H. and S. N. Kim (2010) The Effect on Hair Loss for Impression Formation and Interpersonal Anxiety. *The Korean Society for Aesthetics and Cosmetology.* 8: 1-12.

108. Park, G. S. (2005) The study on management plan of scalp & Hair depilation. *한국뷰티아트학회.* 3: 111-124.

109. Cho, S. Y. (2010) *A Study on the Cognitive Factors of Hair Loss and Related Awareness in Women.* M.S. Tiesis. Dongduk womens University, Korea.

110. Lee, M. H. (2004) *A Study on the Efficient Methods on Hair Care: Based on scientific decision making.* M.S. Thesis. Hoseo University,

Korea.

111. Lee, B. S. (2009) *Study on the Understanding and Attitudes concerning the Scalp and Hair.* M.S. Thesis. Sookmyung Women's University, Korea.

112. Kim, G. A. (2012) *Survey Research on Hair Loss and Hair Transplant Surgery*. M.S. Konkuk University, Korea.

113. Park, G. S. (2005) The study on management plan of scalp & Hair depilation. *Journal of the Korean Society of Beauty and Art.* 3: 111-124.

114. Kim, M. H. (2009) *The Analysis of Behavior Patterns to Lessen the Symptoms of Depilation in the initial Stages.* M.S. Daegu Hanny University, Korea.

115. Kang, S. I. (2010) *Research On Patent Trends of hair loss prevention and hair regrowth.* M.S. Thesis. Seokyeong University, Korea.

116. Oh, S. Y. (2012) *Personalized Immunological Effects of Saeng-Sik Materials and Products.* M.S. Thesis. Kangwon National University, Korea.

117. Shin, H. J. and H. S. Youn (2012) Phenethyl Isothiocyanate Inhibits Ovalbuminiinduced Inducible Nitric Oxide Synthase Expression. *Korean J. Food Sci. Technol*. 44: 759-762.

118. Lee, S. G., E. J. Lee, U. D. Park, J. B. Kim, and S. W. Choi (2011) Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Extracts from Korean Traditional Medicinal Prescriptions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 624-632.

119. Kim, D. H., E. Y. Hwang, and J. H. Son (2013) AntiiInflammatory Activity of Carthamus tinctorious Seed Extracts in RAW 264.7 cells. *The Korean Society of Life Science.* 23: 55-62.

120. Lee, S. H. (2009) *Studies on the expression of inflammatory mediators in mice cochlea exposed to noise.* Ph.D. Thesis. Chonbuk National University, Korea.

121. Rang, M. J. (2013) Anti-inflammatory and Anti-allergic Effects of Herbal Extracts on Atopic Dermatitis (part II). *J. of Korean Oil chemists'Soc.* 30: 173-182.

122. Lee, N. Y. (2008) *Studies of JUJSTK and AJ of concurrent administration suppreses Th17 cell differentiation and antidermatitic effect in atopic Dermatits like skin NC/Nga mouse.* Ph.D. Thesis. Daejeon University, Korea.

123. Park, Y. H. (2010) *Effects of IL-17, IL-4, and IL-13 on Macrophage-derived Chemokine Production and Sphingolipid Extents in Ha Cat Cells.* M.S. Thesis. Chung-Ang University, Korea.

124. Kim, H. J. (2010) *Association between IL 17A/IL 17RA Gene Polymorphisms and Susceptilbility to Alopecia Areata in Korean Population.* Ph.D. Thesis. Kyunghee University, Korea.

125. Lee, N. Y. (2008) *Studies of JUJSTK and AJ of concurrent administration suppreses Th17 cell differentiation and antidermatitic effect in atopic Dermatits like skin NC/Nga mouse.* Ph.D. Thesis. Daejeon University, Korea.

126. Lim, J, M., G. Z. Li, O. H. Chai, and C. H. Song (2004) Inhibitory Effect of Cornifructus on Compound 48/80-induced Mast Cell Activation and Vascular Permeability. *Korean J. Phys. Anthrop.* 1: 19-90.

127. Yan, G. H., Y. H . Choi, and C. H. Song (2009) Inhibitory Effect of Bear Bile on Compound 48/80-induced Mast Cell Activation and IgE-mediated Vascular Permeability. *Korean J. Phys Anthropol.* 22:

71-83.

128. Jeon, H. Y., J. K. Kimg, D. B. Seo, and S. J. Lee (2009) Effects of Chlorophyll a on UVB-induced Cellular Responses and Type I pN Collagen Synthesis in vitro. *Korean J. Food Sci. Technol.* 41: 700-705.

129. Hong, J. K. (2009) A Study on Skin Aging Caused by Free-Radical and on Efficacy of Antioxidant Vitamins. *The Korean Society for Aesthetics and Cosmetology.* 7: 51-62.

130. Cha, W. J. (2003) *A study on properties of the flour-ferment with Lactobacillus acidophilus and the quality of noodles using the ferment.* Ph.D. Thesis. Konkuk University, Korea.

131. Choi, B. S. (2008) *Biological activity of wheat germ and Quaitative character of the Sanghwa-byung.* Ph.D. Thesis. Kyonggi University, Korea.

132. Kim, K. H. (2011) *Grain polyphenol oxidase and lightness of Korean wheat flour.* M.S. Thesis. Chonbuk National University, Korea.

133. Lim, E. Y. (2007) Physicochemical Properties and the Product Potentiality of Soft Wheats. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 412-418.

134. Kim, Y. J., J. C. Ju, R. Y. Kim, and W. T. Kim (2011) Cooking Quality of Fresh Pasta with Concentrated Korean Wheat Semolina. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.* 40: 1017-1024.

135. Kang, H. M. (2012) *Physicochemical Properties and Qualities Evaluation of Wheat Flour by Supercritical Carbon Dioxide Treatment.* Ph.D. Thesis. Pukyong National University, Korea.

136. Nam, J. K. and Y. S. Hahn (2000) Bread-Making Properties of Domestic Wheats Cultivars. *Korean J. Soc. Food Sci.* 16(1), 1-8.

137. Park, J. Y. (2003) *Development of Hypoallergenic Bread using*

*Domestic Wheat.* M.S. Thesis. Sungshin women's University, Korea.

138. Jung, D. S. (2008) *Quality and breadmaking properties of flour milled from wheat treated with carbohydrases*. Ph.D. Thesis. Chonnam National University, Korea.

139. Choi, B. S. (2008) *Biological activity of wheat germ and Quaitative character for the Sanghwa-byung.* Ph.D. Thesis. Kyonggi University, Korea.

140. Choi, B. S. (2009) Quality characteristics of Sanghwabyung with wheat germ. *Korean J. Culinary Res.* 15: 262-270.

141. Choe, J. S. and J. Y. Youn (2005) The chemical composition of barley and wheat varieties. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 223-229.

142. Yi, S. D., J. H. Joo, G. H. Lee, K. T. Lee and M. J. Oh (2003) Antimicrobial \ Activity of Gluten Hydrolysate with Asp. saitoi Protease. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 32: 745-751.

143. Kim, M. C., K. S. Lee, B. J. Lee, B. G. Kwon, J. I. Ju, J. H. Gu, and M. J. Oh (2007) Changes in the physicochemical characteristics of green wheat during maturation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 36: 1307-1313.

144. Park, D. J., K. H. Ku, C. J. Kim, S. J. Lee, J. L. Yang, Y. H. Kim, and C. T. Kim (2003) Quality Characteristics of Korean Wheat Noodle by Formulation of Foreign Wheat Flour and Starch. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 67-74.

145. Kim, Y. J., R. Y. Kim, J. H. Park, J. C. Ju, W. T. Kim, and S. S. Chun (2010) Physicochemical Characteristic of Korean Wheat Semolina. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.* 39: 837-842.

146. Oh, J. H. (2012) *Germination Property at Low Temperature and Freezing Tolerance of Seedlings in Korean Wheat Cultivars.* M.S.

Thesis. Gyeongsang National University. Korea.

147. An, H. L. (2009) *Quality Characteristics of Pan Bread with Sourdough Starter added Domestic Wheat Flour.* Ph.D. Thesis. Kyunghee University, Korea.

148. Oh, J. H. (2012) *Germination Property at Low Temperature and Freezing Tolerance of Seedlings in Korean Wheat Cultivars.* M.S. Thesis. Gyeongsang National University, Korea.

149. Choi, S. H. (2012) *Quality Characteristics of Pan Bread of Domestic Wheat Flour with Mixture of Natural Fermented Starter and Purple Rice Flour.* Ph.D. Thesis. Sejong University, Korea.

150. Choe, M., S. L. Kim, J. D. Kim, S. Y. Lee, and H. S. Kim (2000) Purification of Macrophage Phagocytic Activity-Enhancing Component from Ethanol-Acetic Extract of Korean Wheat. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 29: 312-315.

151. Kim, H. A. and Y. B. Choi (2000) *Sensory property improvement & bakery products baked from Korean wheat flour(woorimil).* Subsidiary Research Centers of Dongseo University. 24: 235-2501.

152. Lee, J. J., H. D, Shin, Y. M. Lee, A. R. Kim, and M. Y. Lee (2009) Effect of Broccoli Sprouts on Cholesterol-lowering and Anti-obesity Effects in Rats Fed High Fat Diet. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.* 38: 309-318.

153. Ryu, K. O. (2006) Wheatgrass, nature's finest medicine : the complete guide to using grass, foods & juices to help your health. p. 11. *hurb world*, Seoul, Korea.

154. Ben-Arye, E., E. Goldun, D. Wengrower, A. Stamper, R. Kohn, and E. Berry (2002) Wheat grass juice in the treatment of active distal

ulcerative colitis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Scand J Gastroenterol.* 37: 444-449.

155. Choudhary, D. R., R. Naithani, I. Panigrahi, R. Kumar, M. Mahapatra, H. P. Pati, and V. P. Choudhry (2009). Effect of wheat grass therapy on transfusion requirement in β-thalassemia major. *The Indian Journal of Pediatrics*, 76: 375-376.

156. Marawaha, R. K., D. Bansal, S. Kaur, and A. Trehan (2004) Wheat grass juice reduces transfusion requirement in patients with thalassemia major: a pilot study. *lndian Pediatr.* 41: 716-720.

157. 장진영, 최민아, 진창덕 (2005) 밀(Triticum aestivum L.) 제 1엽에서 Nitric Oxide의 노쇠 지연 작용에 미치는 칼슘의 효과. 기초과학연구. 16: 199-222.

158. Ozturk, l., O. Sagdic, M. Hayta, and H. Yetim (2012) Alteration in a-tocopherol, some minerals, and fatty acid contents of wheat through sprouting. *Chemistry of Natural Compounds.* 47: 867.

159. Bonfili, L., M. Amici, V. Cecarini, M. Cuccioloni, R. Tacconi, M. Angeletti, and A. M. Eleuteri (2009) Wheat sprout extract-induced apoptosis in human cancer cells by proteasomes modulation. *Biochimie.* 91: 1131-1144.

160. Calzuola, l., V. Marsili, and G. L. Gianfranceschi (2004) Synthesis of Antioxidants in Wheat Sprouts. *J. Agric. Food Chem.* 52: 5201-5206.

161. Falcioni, G., D. Fedeli, L. Tiano, l. Calzuola, L. Manclnelli, and G. Gianfranceschi (2002) Antioxidant Activity of Wheat Sprout Extract in Vitro: Inhibition of DNA Oxidative Damage. *Food Chemistry and Toxicology.* 67: 2918-2922.

162. Peryty, B., T. Szmczyk, and P. Lesca (1992) Mechanism of

antimutagenicity of wheat sprout extract. *Mut. Res.* 269: 201-215.

163. Jung, J. E. (2011) *The Protective Effects of Zizyphus Jujuba and Fermented Zizyphus Jujuba from Oxidative Stress, Recognition Impairment and Hair Loss.* Ph.D. Thesis. Pusan National University, Korea.

164. Lee, S. Y. (2009) *Studies on Antifungal, Antioxidant and Hair Growth Effects of Fractopms from Angelica gigas Root and Decursin.* Ph.D. Thesis. Wonkwang University, Korea.

165. Bayir, H. (2005) Reactive oxygen species. *Crit. Care Med.* 3: 498-501.

166. Malle, E., G. Marsche, J. Arnhold, and M. J. Davies, (2006) Modification of low-density lipoprotein by myeloperoxidase-derived oxidants and reagent hypochlorous acid. *Biochim. Biophys. Acta.* 1761: 392-415.

167. Aydos, O. S., A. Avcl, T. Ozkan, A. Karadag, E. Gurleyik, B. Altinok, and A. Sunguroglu (2011) Antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of wheatgrass(Triticum aestivum L.) extract on CML (K562) cell line. *Turk J. Med Sci.* 41: 657-663.

168. Calzuola I., V. Marsili, and G. L. Gianfranceschi (2004) Synthesis of antioxidants in wheat sprouts. *J. Agric. Food Chem.* 11: 5201-6.

169. Hanninen, O., A. L. Kaartinen, and M. Nenonen (1999) Vegan diet in physiological health promotion. *Acta Physiol Hung.* 86: 171-180.

170. Singh, K., M. S. Pannu, P. Singh, and J. Singh (2010) Effect of wheat grass tablets on the frequency of blood transtusions in thalassemia major. *lndian J. Pediatr.* 77: 90-91.

171. Marsili, V., I. Calzuola, and G. L. Gianfranceschi (2004) Nutritional relevance of wheat sprouts containing high levels of organic phosphates and antioxidant compounds. *J. Clin. Gastroenterol.* 38: 123-6.

172. Falcioni, G., D. Fedeli, L. Tiano, l. Calzuola, L. Manclnelli, and G. Gianfranceschi (2002) Antioxidant Activity of Wheat Sprout Extract in Vitro: Inhibition of DNA Oxidative Damage. *Food Chemistry and Toxicology.* 67: 2918-2922.

173. Bitna, Y., H. Kasai, H. S. Lee, Y. K. Kang, J. Y. Park, and M. H. Yang (2011) Inhibition by wheat sprot(Triticum aestivum) juice of bisphenol A-induced oxidative stress in young women. *Phytother. Res.* 724: 64-68.

174. Day, S. (2006) Effect wheat grass juice in supportive care of terminally ill cancer patients-A tertiary canetr centre experience frm India. *Journal of Clincal Oncology.* 24: 8634.

175. Amicl, M., L. Bonfili, M. Spina, V. Cecarini, I. Calzuola, V. Marsili, M. Angeletti, E. Fioretti, R. Tacconi, G. L. Gianfranceschi, and A. M. Eleuteri (2008) Wheat sprout extract induces changes on 20S proteasomes functionality. *Biochimie.* 90: 790-801.

176. Bonfili, L., M. Amici, V. Cecarini, M. Cuccioloni, R. Tacconi, M. Angeletti, and A. M. Eleuteri (2009) Wheat sprout extract-induced apoptosis in human cancer cells by proteasomes modulation. *Biochem.* 91: 1131-1144.

177. Calzuola, I., F. Giavarini, P. Sassi, L. D. Angelis, G. L. Gianfranceschi, and V. Marsili (2005) Short acidic peptides isolated from wheat sprout chromatin and involved in the control of cell proliferation. Characterization by infrared spectroscopy and mass spectrometry. *Peptides.* 26: 2074-85.

178. Okarter, N. (2012) Phenolic compounds from the insoluble-bound faction of whole grains do not have any cellular antioxidant activity. *Life Sci.*

*Med. Res.* 37: 1-10.

179. Cho, S. E. (2011) *Anti-oxidative, Anti-inflammatory And Immunomodulatory Effets of Chamaecyparis ovtusa Leaves Extracts for Atopic Dermatitis.* Ph.D. Thesis. KonKuk University, Korea.

180. Lee, S. H., Y. M. Lee, H. S. Lee, and D. K. Kim (2009) Anti-oxidative and anti-hyperglycemia effects of *Triticum aestivum* wheat sprout water extracts on the streptozotocin-induced diabetic mice. *Kor. J. Pharmacogn.* 40: 408-414.

181. Ross, R. (1999) Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 40: 115-126.

182. Lee, J. J., H. D, Shin, Y. M. Lee, A. R. Kim, and M. Y. Lee (2009) Effect of roccoli Sprouts on Cholesterol-lowering and Anti-obesity Effects in Rats Fed High Fat Diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 309-318.

183. Lai, C. N., B. Dabney, and C. Shaw (1978) Inhibition of *In vitro* metabolic activation of carcinogens by wheat sprout extracts. *Nutrition and Cancer* 1: 27-30.

184. Lai, C. N. (1979) Chlorophyll: The active factor in wheat sprout extract inhibiting the metabolic activation of carcinogens In Vitro. *Nutrition and Cancer.* 1: 19-21.

185. Chiu, L. C., C. K. Kong, and V. E. Ooi (2005) The Chlorophyllin induced cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer MCF 7 cells isassociated with ERK deactivation and Cyclin D1 depletion . *Int J Mol. Med.* 16: 735-740.

186. Peryty, B., T. Szmczyk, and P. Lesca (1992) Mechanism of antimutagenicity of wheat sprout extract. *Mut. Res.* 269: 201-215.

187. Bowers, W. (1947) Chlorophyll in wound healing and suppurative disease. *Am. J. Surg.* 73: 37-50.

188. Shah, S. (2007) Dietary Factors in the Modulation of Inflammatory Bowel Disease Activity. *Medscape General Medicine* 9: 60.

189. Ben-Arye, E., E. Goldun, D. Wengrower, A. Stamper, R. Kohn, and E. Berry (2002) Wheat grass juice in the treatment of active distal ulcerative colitis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Scand J. Gastroenterol.* 37: 444-449.

190. Wheat, J. G. Currie (2008) Herbal medicine for cancer patients: An evidence based review. *Internet Journal of Alternative Medicine.* 5: 5580-5582.

191. Mates, M. J., S. Jimenez, and M. Fransisca (2000) Role of reactive oxygen species in apoptosis: implication for cancer therapy. *The International Journal of Biochemistry and Cell biology* 32: 157-170.

192. Mates, M. J., S. Jimenez, and M. Fransisca (2000) Role of reactive oxygen species in apoptosis: implication for cancer therapy. *The International Journal of Biochemistry and Cell biology* 32: 157-170.

193. Nenonen, M. T., T. A. Helve, A. L. Rauma, and O. O. Hanninen (1998) Uncooked, Lactobacilli-rich, Vegan Food and Rheumatoid Arthritis. *British Journal of Rheumatology* 37: 274 - 281.

194. Marwaha, R. K., D. Bansal, S. Kaur, and A. Trehan (2004) Wheat Grass Juice Reduces Transfusion Requirement in Patients with Thalassemia Major: A Pilot Study. *Indian Pediatrics.* 41: 716-720.

195. S. Padalia., S. I. Drabu, Raheja, A. Gupta, and M. Dhamija (2010) Multitude potential of wheatgrass juice (Green Blood): An overview. *Chronicles of Young Scientists*. 1: 23-28.

196. Singha, V., J. Prince, K. Selvendirana, B. S. Mumtaz, R. Padmavathia, and D. Sakthisekarana (2004) Protective role of Apigenin on the status of lipid peroxidation and anti-oxidant defence against hepatocarcinogenesis in Wis-tar albino rats. *Phytomedicine* 11: 309-314.

197. Kwak, Y. J. and J. S. Kim (2009) Changes of chlorophyll and SOD-like activities of chinese chives dehydrated at different heat Treatments. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 879-884.

198. Choe, J. S. and J. Y. Youn (2005) The chemical composition of barley and wheat varieties. *J. Korean Soc. Food Sci.* Nutr. 34: 223-229.

199. Singh, K., M. S. Pannu, P. Singh, and J. Singh (2010) Effect of wheat grass tablets on the frequency of blood transtusions in thalassemia major. *lndian J. Pediatr.* 77: 90-91.

200. Kim, H. S. (2004) *Studies on extracts processing of a by-products of Undaria pinnatifida and growth response to horticultural crops treated with seaweed materials.* M.S. Thesis. Sunchon National University, Korea.

201. Endo, Y., R. Usuki, and T. Kaneda (1984) Prooxidant activities of clorophylls and their decomposition products on the photoxidant of methyl linoleate. *JAOCS* 61: 781-784.

202. Park, S. J., J. S. Lee, Y. H. Hoe, E. Y. Moon, and M. H. Kang (2008) Physiology activity of barley leaf using differnt drying methods. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 1627-1631.

203. La, J. H., S. B. Lee, and J. D. Lee (2011) Optimization of biodiesel synthesis process using spent coffee grounds. *Appl. Chem. Eng.* 22: 72-76.

204. Yoo, K. M., M. R. Song, and E. J. Ji (2011) Preparation and sensory

characteristics of chcolate with added coffee waste. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 24: 111-116.

205. Rim, S. H., M. S. Zong, and S. H. Park (1995) A study on removal of Pb, Cr, Cd, in wastewater using exhausted coffee. Korean *J. Environ. Sci. Health.* 21: 21-28.

206. Kang, J. W., W. H. Yang, K. H. Choi, and M. S. Zong (1997) A study on removal with coffee grounds. *J. Environ. Sci. Health* 7: 14-23.

207 Song, E. J., J. Y. Kim, S. Y. Lee, K. B. W. R. Kim, S. J. Kim, S. Y. Yoon, S. J. Lee, C. J. Lee, and D. H. Ahn (2009) Effect of roasted ground coffee residue extract on shelf-life and quality of salted mackerel. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 780-786.

208. Ko, Y. H., S. Y. Kang, and I. S. Jang (2012) Effects of dietary supplementation of coffee meal on growth performance blood biochemical profiles and antioxidant defense system in broiler chickens. *Korean J. Poult. Sci.* 39: 223-232.

209. Lee, M. K., D. I. Shin, and H. S. Park (2012) Acceleration of the mycelial growth of Trametes veriscolor by spent coffee ground. *Korean J. Mycol.* 40: 292-295.

210. Shin, H. S. and E. J. Hwang (1998) Evaluation of people's participation on separate collection of garbage. *J. KOWREC* 6: 113-129.

211. Jung, J. E. (2011) *The Protective Effects of Zizyphus Juiuba and Fermented Zizyphus Jujuba from Oxidative Stress, Recognition Impairment and Hair Loss.* M.S. Thesis. Pusan National University, Korea.

212. Basu, S. and B. Hazra (2006) Evaluation of nitric oxide scavenging activity, in vitro and ex vivo, of selected medicinal plants traditionally

use in inflammatory diseases. *Phytother. Res.* 20: 869-900.

213. Lee, H. N., D. Y. Lim, S. S. Lim, J. D. Kim, and J. H. Y. Park (2011) Anti-inflammatory Effect of Ethanol Extract from Eupatorium japonicum. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 65-71.

214. Kim, Y. S., S. J. Lee, J. W. Hwang, E. H. Kim, P. J. Park, and J. H. Jeong. (2012) Anti-Inflammatory Effects of Extracts from Ligustrum ovalifolium H. Leaves on RAW264.7 Macrophages. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 1205-1210.

215. Ryu, E. M. and H. J. Shin (2011) Hair Growth Effect of Ethyl Acetate and Water Fractions of Sparassis Crispa Extracts on Hair-Removed C57BL/6 mice. *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetology.* 9: 295-304.

216. Kawano, M., J. Han, M. E. Kchouk, and H. Isoda (2009) Hair growth regulation by the extract of aromatic plant Erica multiflora. *J. Nat. Med.* 63: 335-339.

217. Lee, K. M., J. A. Lee, J. Y. O, and Y. C. Kim (2010) The Hair Growth Effect of Polygoni Mulitiflori Radix Water Extracts in C57BL/6 Mice. *The Journal of Cosmetological Science.* 6: 419-426.

218. Kim, M. H. and Y. C. Kim (2010) The Effects of Rosemary Oil on the Activities of Enzyme and Expression of Cytokine Relevant to Hair Growth in C57BL/6 Mice. *Journal of Korean Beauty Society.* 16: 298-308.

219. Im, E. J. and C. H. Cho (2011) Comparison of Mineral Contents in Hair Between Alopecia and Non-alopecia Using a ICP-MS. *J. Kor. Soc. Cosm.* 17: 1059-1065.

220. Kim, H. S. and J. Y. Do (2010) A Study on the Preventing Hair Loss

and Improving Hair Growth by using Naturopathy. *Journal of the Korean Society of Beauty and Art.* 11: 1-15.

221. Lee, S. O. and J. D. Jang (2009) Research of the Stress Alopecia Scalp Care Effectiveness by Craniosacral Therapy. *J. Kor. Soc. Cosm.* 15: 1012-1018.

222. Lee, J. L. and E. J. Im (2009) Analysis and Forecast of the Domestic Market for Hair loss. *The Korean Society for Aesthetics and Cosmetology.* 7: 153-161.

223. Hong, J. A. (2008) *Effect of Yikgeebohyul-tang on Hair Regrowth and Cytokine Changes on Hair-Removed C57BL/6 Mice.* Ph.D. Thesis. Kyunghee University, Korea.

224. Lee, M. W., C. H. Oh, J. Kwon, C. H. Song, and C. H. Lee (2005) The Studies on the Factors Related to Normal Hair Growth During Postnatal Growth Periods in C57BL/6N, Hairless and Alopecia Areata Mice Model. *Korean J. Phys. Anthropol.* 18: 13-27.

225. Lim, E. Y. (2007) Physicochemical Properties and the Product Potentiality of Soft Wheats. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 412-418.

226. Ryohei F. T., I. Kawikova, R. Ramabhadran, M. Akahira-Azuma, D. Taub, T. E. Hugli, C. Gerard, and P. W. Askenase (2000) Early Local Generation of C5a Initiates the Elicitation of Contact Sensitivity by Leading to Early T Cell Recruitment. *J. Immunol.* 165: 1588-1598.

227. Kremer, I. B., S. R. Stevens, J. W. Gould, J. DiCarlo, G. E. Quinby, and K. D. Cooper (2000) Intradermal granulocyte-macrophage colony-stimulating factor alters cutaneous antigen-presenting cells and differentially affects local versus distant immunization in humans. *Clin Immunol.* 96: 29-37.

228. Jongh, C. M., L. Khrenov, S. Kezic, T. Rustemeyer, M. M. Verberk, and S. John, M. (2008) Polymorphisms in the interleukin-1 gene influence the stratum corneum interleukin-1 alpha concentration in uninvolved skin of patients with chronic irritant contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* 58: 263-8.

229. Masuda, K., N. Katoh, F. Soga, and S. Kishimoto (2005) The role of interleukin-16 in murine contact hypersensitivity. *Clin. Exp. Immunol.* 140: 213-9.

230. Dufour, J., H. M. Dziejman, M. T. Liu, J. H. Leung, T. E. Lane, and A. D. Luster (2002) IFN-gamma-inducible protein 10 (IP-10; CXCL10)-deficient mice reveal a role for IP-10 in effector T cell generation and trafficking. *J. Immunol.* 168: 3195-3204.

# 감사의 글

2010년 9월 박사 진학이 엊그제 같은데 벌써 3년 6개월이 지났습니다. 저에게는 결코 짧지 않은 시간들이었고 제가 살아온 10년과 바꿀 정도의 에너지와 열정을 쏟았던 거 같습니다. 제 인생에서 석사 학위가 최종 학위일거란 생각과는 달리 겁 없이 일반대학원 화장품 향장공학박사 과정 1기로 입학하면서 많은 분들의 걱정과 만류에도 불구하고 다니던 직장을 사직하고 실험실로 출근을 했습니다. 실험실 생활은 제가 살아왔던 세상과 전혀 다른 세상이었고, 처음 만져보는 시약과 기계들, 유년시절 과학시간에 만져 본 비이커와 초자들만 가득한 공간이었습니다. 사회생활 할 때는 직위와 직함들이 있었고 나름 사회에서는 괜찮은 명함을 가지고 있었지만, 공학 실험실이란 곳은 계산기와 모르는 전문용어들 사이에서 너무도 작아지는 내 목소리를 느끼면서 살아남아야겠단 생각을 제일 먼저 하게 되었습니다. 지금 생각해 보면 정말이지 겁 없는 도전이었지만 제 인생에 무엇과도 바꿀 수 없는 가장 큰 이슈이자 반전에 계기가 되었다는 것을 압니다.

박사논문을 마무리 하면서 제가 힘들 때 주변에 정말 고마우신 분들이 많다는 걸 느꼈습니다. 저를 아시는 분들마다 힘과 용기 있는 말씀을 해 주셔서 이렇게 감사한 결실을 맺은 것이라 생각합니다. 먼저 지도교수님이신 신현재 교수님의 아낌없는 독려에 감사 말씀 전합니다. 저를 happy lady라고 해 주셔서 감사드리고 항상 제자로써 부끄럽지 않게 멋진 여성이 되도록 노력 하겠습니다. 이번 박사학위 논문 심사를 해 주신 이중헌 교수님, 이재욱 교수님, 조훈 교수님, 박병건 교수님께 진심으로 감사드립니다. 아직은 많이 부족하지만  앞으로 차곡 차곡 채워나가도록 노력 하겠습니다. 대학원 주임 교수님이신 김정규 교수님, 차월석 교수님, 조병욱 교수님, 김선일 교수님, 최영안 교수님 항상

뵐 때마다 “고생하시죠? 실험 잘 진행되나요? 이제 할 만 한가요?” 항상 따뜻한 말씀과 용기를 주셔서 마음 깊이 감사드립니다. 제 논문을 마무리 할 수 있게 걱정해주시고 도움주신 이병래 교수님 제게 참 많은 힘이 되어 주신 거 잊지 않겠습니다. 그리고 전영진 교수님, 최수경 박사님, 노성희 박사님, 손정선 박사님, 이민영 선생님께 행복할 수 있게 도와주셔서 감사드립니다. 실험실 후배 최문희 선생님, 민명자 선생님, 용조, 용훈, 한교 같이 할 수 있어서 감사했고, 좋은 결실 있기를 기원합니다. 든든한 친구 김창오 교수, mizhang xiao 박사님, 최도영 박사님 넓은 배려 잊지 않겠습니다. 잊을 수 없는 멤버 윤수, 관우, 은실, 미화, 가륜, 중국에 있는 오원정 박사님, 인도에 있는 가야트리 박사님, 김현우 박사님, 지순, 정훈, 의진 모두에게 감사드립니다. 일주일에 2번 2년 동안 동강대학교 뷰티미용과 출강할 때 “고생하시죠? 잘 되실 겁니다, 힘내세요.” 라고 따뜻한 배려와 힘을 주신 교수님들께 감사드립니다. 나에 멘토이신 곽인실 교수님 같이 박사를 졸업할 수 있어서 영광으로 생각합니다. 요즘 들어 제가 습관처럼 제일 많이 쓰는 단어가 “고맙습니다. 감사합니다” 인 것 같습니다. 일일이 감사 인사드리지 못한 점 송구스럽게 생각합니다.

논문 작업하면서 정말 많이 생각난 아버지 존함 류용수, 20년 전에 모습이지만 항상 같이 있었고 사랑합니다. 홀로계신 어머니 김봉례 여사님 항상 바쁜 딸 때문에 속상해 하시는데 이제 자식들 걱정하지 마시고 건강히 오래오래 사세요. 마지막으로 사랑하는 가족들에게 많이 미안하고 감사하고 곁에 있어줘서 고맙다는 말 전하면서 이 행복한 마음 전하고 싶습니다.

앞으로 류은미 박사로써, 조선대학교에서 베풀어주신 사랑 잊지 않고 조선인으로써 아름다운 재능 나누며 살겠습니다.

감사합니다.

2013년 12월

류 은 미 드림

# 이 력

## 학력

2014년 조선대학교(일반대학원) 화장품향장공학 박사

2010년 조선대학교(산업대학원) 미용향장학 석사

## 석사학위논문

꽃송이버섯 추출물이 제모된 C57BL/6 마우스의 모발성장 및 억제에 미치는 영향

Effect of Sparassis crispa extracts on hair growth and inhibition of hair-removed C57BL/6 mice

저자 : 류은미, 지도교수 : 신현재

조선대학교 산업대학원 미용향장학과 (2010. 8)

## 연구경력

중소기업청 양파, 비파, 편백의 혼합추출물의 피부안정성과 양모효과 연구원 (발모)

서원대학교 BioRIC 참여연구원 (발모)

농림수산식품부 농림수산식품기술기획평가원 연구보조원 (참바늘버섯)

화학공학연구정보센터 연구원 (모발성장증식연구회)

## 논 문

1. 밀싹 에탄올 추출물의 C57BL/6 mouse에 대한 발모 효과

   Effect of ethanolic extract from wheat sprout on hair growth of C57BL/6 mouse

   저자명 : **류은미**, 서관우, 기근홍, 신현재*

   학술지명 : 대한피부미용학회

2. 원두커피 부산물 첨가에 따른 밀싹의 성장과 엽록소 성분의 변화

   Effect of coffee grounds′ residue on the growth and chlorophyll content of Korean wheat sprout

   저자명 : 류은미, 최환석, 신현재*

   학술지명 : KSBB Journal

3. 밀싹의 생리활성과 활용방안

   Health Effects and Applications of Wheat Sprout: A Review

   저자명 : **류은미**, 신현재*

   학술지명 : KSBB Journal

4. 경락마사지 기기를 이용한 갱년기 여성의 안면 피부 개선효과

   The Improvement Effect on Facial Skin of Menopausal Women Using Meridian Massage Apparatus

   저자명 : **류은미**, 나명순, 신현재

   학술지명 : 한국두피모발학회지 (2011)

5. C57BL/6 마우스에서 꽃송이버섯 추출물의 에틸 아세테이트층과 물층의 분리에 따른 발모 효과

   Hair growth effect of ethyl acetate and water fractions of Sparassis crispa extracts on hair-removed C57BL/6 mice

   저자명 : **류은미**, 신현재

   학술지명: 대한피부미용학회지 (2011)

6. 꽃송이버섯 추출물이 제모된 C57BL/6 마우스의 모발성장 및 억제에 미치는 영향

   Effect of Sparassis crispa extracts on hair growth inhibition of

hair-removed C57BL/6 mice

저자명 : **류은미**, 나명순, 신현재

학술지명 : 대한피부미용학회지 (2010)

7. 근막이완 마사지가 하체지연성 근육통의 감소, 근육이완 및 회복에 미치는 영향

Effect of myofascia massage on reduction of myalgia and muscle relaxation, and recovery of delayed onset muscle soreness (DOMS) of lower body

저자명 : 김희라, **류은미**, 신현재

학술지명: 대한피부미용학회지 (2012)

8. 동백나무 잎 추출물의 여드름 피부 개선 효과

Improvement of Acne Condition in Skin Care Using Camellia japonica L. extracts

저자명 : 최문희, **류은미**, 오득실, 신현재

학술지명 : 대한피부미용학회지 (2012)

9. 숭어추출물이 염색과 탈색 모발의 물리적 손상에 미치는 영향

Gray Mullet Extract on Physical Damage of Colored and Bleached Hair

저자명 :민명자, 나명순, **류은미**, 차월석

학술지명 : 대한피부미용학회지 (2011)

10. 고주파요법과 갯장어 추출물 병행처리가 남성피부에 미치는 영향

Combined Treatment Effect of High Frequency Therapy with Sharp-Toothed Eel Extract on Men's Skin

저자명 : 노현주, 김윤수, 남형근, 신현재, **류은미**, 나명순, 안병권, 최두복

학술지명 : KSBB Journal (2011)

11. 숭어 추출물을 이용한 주름개선 효과

Effects of Mugil cephalus Extract on Wrinkle Improvement

저자명 : 조숙정, 김윤수, 남형근,신현재, **류은미**, 나명순, 안병권, 최두복, 차월석

학술지명 : KSBB Journal (2011)

## 특 허

발명의 명칭: 인삼 및 홍삼 액기스의 사포닌 함량을 높이는 방법

출원번호 (출원일) : 10-2011-0028294, (2011년 03월 29일)

출원인(발명자) : (주) 보덕에프앤지, (정현대, 신현재, 강창오, **류은미**)

## 주요경력

현)동강대학교 (뷰티미용과, 외래출강)

현)대한미용학회 이사

현)대한피부미용학회 이사

현)광주지회장 (사)한국가발협회

현)뷰티칼럼니스트 (파인뉴스)

현)두피모발관리 전문 강사

현)교육위원회위원 (사)한국두피모발관리사협회

현)자격검정위원회위원 (사)국제두피모발협회

2013년 일본국제큐슈이・미용선수권대회 심사위원

2013년 일본국제큐슈이・미용선수권대회 감사패

2013년 아시아뷰티페스티벌, 심사위원장 (아시아뷰티페스티벌)

2013년 제7회 k-뷰티세계디자인대회 심사위원

2012년 두피모발기능대회 심사위원 (경기도)

2010년 광산미용학원 부원장 (광산미용학원장)

2010년 두피모발진단관리 경기대회 준비위원 ((사) 한국두피모발관리사협회)

2010년 대한민국 뷰티디자인 엑스포 콘테스트 두피 심사위원

2010년 제7회세계뷰티콘테스트 국제심사위원 ((사) 세계미용강사협회)

2009년 국제심사위원 ((사) 한국헤어피부미용중앙회)

2009년 한국두피가발협회 운영이사, (TW, 한국두피가발협회)

2009년 제6회세계뷰티콘테스트 국제심사위원 ((사)세계미용강사협회)

2009년 카프컵미용경기대회 심사위원 (KAF 미용능력교육협의회)

2009년 미국국립주정부 미용술협의회 실기감독관 ((공익법인)국제미용교육협회&NIC)

2009년 광주시장배 심사위원 (사, 대한미용사회광주광역시)
2009년 전국미용기능경기대회 심사위원 ((사)미용능력개발협회)
2008년 TRICHOLOGIST심사위원 위촉 ((사) 국제두피모발협회)
2008년 국제심사위원 ((사) 한국헤어피부미용중앙회)
2008년 제7회세계뷰티국제콘테스트 국제심사위원
2008년 국제두피모발협회 기술위원 (사) 국제두피모발협회)

## 자격증

직업능력개발훈련교사 (노동부장관)
미용 실기교사 (교육부장관)
미용사자격증 (한국산업인력공단)
족부건강관리사1급 (오약석신부족부건강법한국협회)
메이크업전문가3급 (한국메이크업협회)
네일기술자격인증2급 (한국네일기술진흥원)
스포츠트레이너1급 (한국생활건강관리사협회)
발관리1급 (한국생활건강관리사협회)
대체요법1급 (한국생활건강관리사협회)
카이로프락틱1급 (한국생활건강관리사협회)
피부관리1급 (한국생활건강관리사협회)
아로마경락1급 (한국생활건강관리사협회)
경락마사지사 (대한피부관리협회)
피부관리사1급 (대한피부관리협회)
TRICHOLOGIST 수료 (피토스토리)
교육강사(발관리) (대한피부관리사협회)
TRICHOLOGIST 3급인증강사 (KAT, 한국두피모발관리사협회)
TRICHOLOGIST 3급 (KAT, 한국두피모발관리사협회)
레크리에이션지도자1급 ((사) 대한사외체육교육원장)
웃음치료사1급 ((사) 대한사외체육교육원장)

인체해부중국연수 (중국중의대)

TRICHOLOGIST 1급 (KAT, 한국두피모발관리사협회)

가모인증강사3급 (TW, 한국두피가발협회)

바이오에너지 공학 신기술 (서울대학교 유전공학연구소장)

국가연구개발사업, R&D 역량강화 기본・심화 과정 수료 (연구개발인력교육)

## 수상실적

2013년 희망멘토링대상 (대한민국국회 여성가족위원장 국회의원 김상희)

2013년 지도자대상 (대한민국문화예술대상, 한국연예일보, 코리아뉴스타임, 대한방송언론연합뉴스)

2013년 미용문화공헌대상 (한국을빛낸스타대상, 대한언론인연합회, 한국문화예술신문사, 대한방송언론연합뉴스)

2013년 아카데미대상 (아시아뷰티)

2013년 표창장 (대한민국국회)

2013년 대상 (트레머리창작, 노동부)

2013년 대상 (전통쪽머리, 문화체육관광부)

2012년 행복나눔대상 (대한민국국회 교육과학기술위원회위원장(국회의원 신학용))

2012년 학생우수논문발표상 (포스터부분, (사)한국생물공학회)

2011년 재능나눔최우수상 (대한민국전문가자원봉사자연합회)

2011년 학술상 (조선대학교)

2010년 백대미용인대상 (국제미용뉴스사)

2010년 대한민국시민자원봉사 표창장 (국회보건복지위원장(국회의원 이재선))

2010년 감사장 (대한피부미용학회 춘계학술대회)

2010년 우수논문상 (대한피부미용학회 춘계학술대회)

2010년 은상 고전머리 ((사)한국고전머리협회)

2008년 장려상 (안면관리, 서귀포시)

2008년 표창장 (국제헤어피부미용 기능경기대회)

2008년 표창장 (서울특별시 태권도협회)

2008년 금상 (헤어, (사)세계미용강사협회)

2008년 동상 (두피관리, (사)세계미용강사협회)

2007년 금상 (두피관리, KAT-한국두피모발관리사협회)

2007년 두피그랑프리상 (두피관리, (사)한국헤어피부미용중앙회)

2007년 은상 (발관리, (사)국제미용강사협회)

2007년 대상 (두피관리, (사)국제미용강사협회)

## 작품발표

2012년 소아암환자돕기, 한국역사고증 가발헤어패션쇼
(조선왕조 제4대 왕 세종대왕 작품 발표)

2012년 소아암환자돕기, 한국역사고증 가발헤어패션쇼
(포스트모더니즘-나무와달 작품 발표)

# 저작물 이용 허락서

| 학 과 | 화학공학과 | 학 번 | 20107530 | 과 정 | 박사 |
|---|---|---|---|---|---|
| 성 명 | 한글 류 은 미 | 한문 柳 銀 美 | | 영문 RYU EUN-MI | |
| 주 소 | 광주 광역시 광산구 우산동 | | | | |
| 연락처 | E-mail : rem73@daum.net | | | | |
| 논문제목 | **한글** : 밀싹 추출물이 모발성장에 미치는 효과 | | | | |
| | **영문** : Effect Wheat Sprout Extracts on Hair Growth | | | | |

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

**동의여부 : 동의( ○ ) 반대( )**

2014 년 2 월

저작자: 류은미 (인)

# 조선대학교 총장 귀하